

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
BEEINFLUSSUNG DER AKTIVITÄTEN
DIAGNOSTISCH WICHTIGER ENZYME
IM SERUM DURCH EISENPRÄPARATE
VERSCHIEDENER TOXIZITÄT**

Alfred Plendl

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551921_0111

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
(Komm. Vorstand: Professor Dr. J. Kalich)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER AKTIVITÄTEN
DIAGNOSTISCH WICHTIGER ENZYME IM SERUM DURCH EISENPRÄPA-
RATE VERSCHIEDENER TOXIZITÄT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Alfred Plendl
aus
Straubing

München 1974

GEDRUCKT MIT GENEHMIGUNG DER
TIERÄRZTLICHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Dekan:	Prof. Dr. E. Dahme
Referent:	Prof. Dr. A. Schmid
Korreferent:	Prof. Dr. J. von Sandersleben
Tag der Promotion:	22. Februar 1974



Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. <u>EINLEITUNG</u>	1
II. <u>LITERATURÜBERSICHT</u>	3
1. <u>Akute Eisenvergiftung</u>	3
1.1. Vorkommen und Bedeutung	3
1.2. Klinische Vergiftungssymptome	3
1.3. Klinisch-chemische Befunde	4
1.4. Pathologisch-anatomische Vergiftungssymptome	4
1.5. Pathologisch-histologische Befunde	5
1.6. Biochemische Eisenwirkungen	6
1.6.1. Wirkungen auf erregbare Strukturen	7
1.6.2. Wirkungen auf zelluläre und subzelluläre Membranen	7
1.6.3. Wirkungen auf Enzyme	10
2. <u>Enzymdiagnostik</u>	11
2.1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)	12
2.2. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)	12
2.3. Lactat-Dehydrogenase (LDH)	12
2.4. Lactat-Dehydrogenase-1-Isoenzym (LDH-1)	13
2.5. Creatin-Kinase (CPK)	13
2.6. Alkalische Phosphatase (AP)	14
2.7. Saure Phosphatase (SP)	14
III. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	15
1. <u>Material und Methodik</u>	15
1.1. Versuchstiere	15
1.2. Eisenpräparate	15
1.3. Applikation und Dosierung	16
1.4. Enzymbestimmung	17
1.4.1. Blut- und Serumgewinnung	17
1.4.2. Testsätze	18
1.4.3. Messung der Enzymaktivitäten	18

	Seite
2. <u>Ergebnisse</u>	20
2.1. Enzymaktivitäten der Kontrolltiere	20
2.2. Enzymaktivitäten der Versuchstiere	20
2.3. Klinische Wirkungen der Eisenpräparate	55
IV. <u>DISKUSSION</u>	56
V. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	61
<u>SUMMARY</u>	62
VI. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	64
<u>Lebenslauf</u>	

I. EINLEITUNG

Ohne prophylaktische oder therapeutische Eisenverabreichung entwickelt sich bei Saugferkeln unter den heute üblichen Aufzuchtbedingungen häufig eine hypochrome, mikrozytäre Anämie (6, 7, 81). Sie wird auf folgende Ursachen zurückgeführt:

- eine artspezifisch geringe Eisenreserve des neugeborenen Ferkels von etwa 30 mg/kg Körpergewicht; sie soll nur die Hälfte oder weniger als bei anderen Species betragen (30, 71);
- den geringen Eisengehalt der Sauenmilch, welcher nur 10-15% des Eisenbedarfs der Ferkel zu decken vermag;
- die Stallhaltung des Schweines, welche eine Eisenaufnahme mit Erde ausschließt und
- die Züchtung frühreifer und frohwüchsiger Schweinerassen mit so hohem Eisenbedarf, daß er mit der Nahrung nicht mehr gedeckt werden kann (4, 5, 6, 9, 22, 60, 76, 117).

Als Folge der Eisenmangelanämie kommt es zu Todesfällen bei Saugferkeln, deren Umfang mit etwa 15% aller Ferkelverluste angegeben wird (62).

Zur Verhütung solcher Verluste wurde zunächst eine Zufütterung resorbierbarer Eisenverbindungen an gravide Mutterschweine (7, 116), ein Besprühen des Gesäuges mit Eisensulfat (7, 22) und die orale Verabreichung von Eisenpräparaten an Ferkel versucht (4, 13, 21, 31, 93). Die Ergebnisse waren unbefriedigend. Eine Änderung ergab sich erst mit der Entdeckung parenteral anwendbarer Eisenverbindungen auf Polysaccharidbasis durch die Engländer LONDON und TWIGG (73) im Jahre 1952.

Heute werden zur Prophylaxe der Eisenmangelanämie 200 mg Eisen pro Ferkel (14) - meist in Form solcher Eisenpolysaccharidkomplexe - in den ersten drei Lebenstagen verabreicht (7, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 21, 22, 31, 74, 93, 115, 116). Die Applikation erfolgt intramuskulär, subkutan oder intraperitoneal (8), also grundsätzlich parenteral. Sie ist wirksam, jedoch nicht völlig risikofrei. Dies ergibt sich aus zahlreichen Berichten über Todesfälle bei klinisch gesunden Ferkeln nach parenteraler Eisenverabreichung (2, 9, 12, 14, 59, 65, 66, 82, 83, 85, 86, 114, 123).

Die Ursachen dieser Todesfälle sind nicht restlos bekannt. Eine Rolle spielen bestimmte Eigenschaften der Präparate, z. B. der Anteil nicht komplex gebundenen Eisens (97) und der Eisen(II)gehalt (46) bzw. reduzierende Zusätze zu

den Präparaten (45, 46). Von Bedeutung ist außerdem die Vitamin-E-Versorgung der Muttertiere und Ferkel (14, 59, 65, 166). Schließlich werden auch unspezifische Ursachen wie Infektionen etc. für einen Teil der Todesfälle verantwortlich gemacht (14, 59, 87, 114).

Weitgehend unbekannt ist auch die Pathogenese der medikamentösen parenteralen Eisenvergiftung. Zu deren besserem Verständnis soll die vorliegende Arbeit beitragen. Sie handelt von der Aktivitätsbeeinflussung diagnostisch wichtiger Enzyme im Serum nach Verabreichung verschieden toxischer Eisenpräparate in der Erwartung, dadurch Hinweise auf Art und Stärke geschädigter Organe und Gewebe zu erhalten.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Akute Eisenvergiftung

1.1. Vorkommen und Bedeutung

In der klinischen und toxikologischen Literatur sind Berichte über Eisenintoxikationen nach oraler Aufnahme exzessiver Eisensulfatmengen in Form antianämischer Präparate, insbesondere durch Kinder, keine Seltenheit (17, 23, 32, 50, 54, 80, 92). BEN ISHAY (11) und ROSS (94) beobachteten bei Patienten toxische Reaktionen nach parenteraler Applikation von Eisenpräparaten in therapeutischen Dosierungen. In der Veterinärmedizin sind vor allem die spontan auftretenden, meist tödlich endenden Eisenintoxikationen bei Saugferkeln nach parenteraler Applikation von Bedeutung (2, 9, 12, 14, 59, 65, 66, 83, 84, 85, 86, 114, 123). Über experimentelle orale und parenterale Eisenvergiftungen liegen zahlreiche Publikationen vor (2, 18, 46, 50, 84, 86, 87, 92, 104, 105, 124, 132).

1.2. Klinische Vergiftungssymptome

Nach oraler Aufnahme toxischer Dosen resorbierbarer Eisenverbindungen oder nach parenteraler Zufuhr injizierbarer Eisenpräparate zeigt sich ein klinisches Vergiftungsbild (18, 23, 50, 54, 59, 65, 82, 84, 105, 124, 132), das durch eine zentrale Depression mit leichter Sedierung bis zu einem narkoseähnlichen Stadium gekennzeichnet ist. Dieser Zustand kann von Tremor oder klonischen Krämpfen der gesamten Körpermuskulatur unterbrochen werden. Im Verlauf der Vergiftung werden Abflachung der Atmung bei gleichzeitiger Steigerung der Atemfrequenz, Herzrhythmusstörungen, Tachykardie und Blutdruckabfall beobachtet. Todesfälle treten in der Regel 6 - 12 - 24 Stunden nach Beginn der Vergiftungserscheinungen ein.

GUTSCHOW und SCHMID (45) berichten von zwei deutlich unterschiedlichen Vergiftungsbildern nach parenteraler Eisenzufuhr, welche sie bei der Toxizitätsermittlung handelsüblicher Eisenpräparate an Mäusen feststellen konnten:

Typ 1: Vergiftungen mit unmittelbar nach der intraabdominalen Eisenapplikation einsetzender heftiger Exzitation und starkem Tremor, welche regelmäßig überlebt wurden und

Typ 2: Vergiftungen mit rasch eintretender Sedation und schließlicher Hypnose, welche ebenso regelmäßig zum Tod führten.

Dem Typ 1 entsprechende Befunde sind von ARANDA und ASENJO (1) nach Eisendextraninjektionen auch an Affen und Kaninchen gesehen worden. Typ 2 entspricht der bekannten Symptomatik der Eisen-II-Vergiftung. Dieses Vergiftungsbild wird auch als "Eisennarkose" angesprochen (36, 118, 130).

Orale Eisenvergiftungen werden zusätzlich von gastrointestinalen Symptomen, wie blutigem Erbrechen und Durchfall aufgrund lokaler Schleimhautirritationen begleitet (54).

1.3. Klinisch-chemische Befunde

Bei experimentellen Eisenintoxikationen gehen mit den Vergiftungssymptomen folgende klinisch-chemische Veränderungen einher (65, 83, 86, 87, 131): Neben einer Erhöhung der Eisenkonzentration steigt der Kaliumspiegel im Serum auf über 10 mVal/l. Die Serumglucosewerte steigen im Verlauf der Erkrankung auf das Vier- bis Fünffache des Normalwertes an. Auf die Steigerung der Serumaktivität zellulärer Enzyme (Alkalische Phosphatase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, β -Glucuronidase, saure Phosphatase, Sorbit-Dehydrogenase) soll an anderer Stelle noch näher eingegangen werden.

Bei vitamin E-armen Tieren - sie zeigen bekanntlich eine verminderte Eisentoleranz (14, 59, 65, 66, 83, 86, 88, 108, 114) - sind diese Veränderungen besonders ausgeprägt.

COVEY (23), JACOBS et al. (54), REISSMANN et al. (92), WHITTEN et al. (124) konnten schließlich bei akzidentellen bzw. experimentellen Eisenintoxikationen von Menschen bzw. Tieren ausgeprägte Azidosen mit pH-Werten bis 6,7 feststellen.

1.4. Pathologisch-anatomische Vergiftungssymptome

Die geweбетoxische Wirkung des Eisens manifestiert sich sowohl am Applikationsort als auch in allgemeinen Reaktionen.

BOLLWAHN et al. (14), ÜBERSCHÄR (114), KÖHLER (59) und BEHRENS (9) sahen bei der Sektion verendeter Ferkel im Bereich der Injektionsstelle eine hochgradige, blauschwarze bis braunschwarze Verfärbung von Interstitium und Muskulatur, welche stets von einem interstitiellen Oedem begleitet war. Die in der Umgebung der Injektionsstelle gelegenen Lymphknoten zeigten markige

Schwellungen und waren hochgradig braungelb bis braunschwarz gefärbt. Gleichsinnige Farbveränderungen konnten teilweise auch bei allen weiteren Körperlymphknoten angetroffen werden. Nekrosen von Haut und Muskulatur wurden bei protrahiertem Krankheitsverlauf festgestellt.

Ausdehnung und Schwere der lokalen Veränderungen waren stark präparat- und dosisabhängig.

Die pathologisch-anatomischen Befunde des Gesamttierkörpers ergaben ein wenig charakteristisches Bild. Hydrothorax und Hydroperikard stellten BOLLWAHN et al. (14) und NILSSON (83) fest. Letzterer konnte eine tigerfleckige Zeichnung des Myokards erkennen, BOLLWAHN et al. sahen dagegen vorwiegend Blutungen im Herzmuskel.

Emphysematöse Veränderungen der Lunge beschrieb KÖHLER (59). Auch ÜBERSCHÄR (114) konnte eine Oedematisierung dieses Organs feststellen. KÖHLER sah zusätzlich das Auftreten hyperplastischer Milzschwellungen.

Bei oraler Eisenintoxikation imponieren neben den genannten Organbefunden mehr oder weniger stark ausgeprägte Schleimhautirritationen des Magen-Darmtraktes (23, 54, 91).

1.5. Pathologisch-histologische Befunde

Im Bereich der Injektionsstelle stellten KÖHLER (59) und ÜBERSCHÄR (114) herdförmige und diffuse Ablagerungen von eisen-positivem Material fest. Dieses war zum Teil in Makrophagen gespeichert, zum Teil lag es als grobkörnige oder homogene Substanz frei im Gewebe. Zum Zentrum der Injektionsstelle hin nahmen degenerative Veränderungen an Muskelfasern sowie die Eisenablagerungen stark zu. KÖHLER (59) bezeichnete diese Veränderungen als hyalinschollige Degeneration.

Diese Art der Zellschädigung konnte auch generalisiert in der Skelettmuskulatur des gesamten Tierkörpers festgestellt werden (2, 59, 83, 84, 86, 87). Dabei zeigt sich kein Unterschied zwischen oraler und parenteraler Eisenzufuhr (2).

In den Glomerula und Tubulusabschnitten der Nieren fanden BOLLWAHN et al. (14) und KÖHLER (59) ebenfalls Ansammlungen von eisenpositivem Material. KÖHLER beobachtete weiterhin an den Nierentubuli eine in Abhängigkeit von der Überlebenszeit nach distal fortschreitende Nephrose.

Im Gegensatz zu der beim Ferkel wie auch bei Ratten (59) im Vordergrund des toxischen Geschehens stehenden Degeneration der Skelettmuskulatur, wurden beim Kaninchen bevorzugt pathologische Veränderungen der Leber beobachtet. Sie waren gekennzeichnet durch einen von der Läppchenperipherie zum Zentrum hin fortschreitenden Zelluntergang (87, 132). Dieser tierartige Unterschied ist für die experimentelle Toxikologie von Bedeutung.

1.6. Biochemische Eisenwirkungen

Das aus dem Darm oder aus Injektionsdepots resorbierte Eisen wird im Serum an Transferrin, ein spezifisch dem Eisentransport dienendes β_1 -Globulin, gebunden (42, 70). Die Eisensättigung des Transferrins liegt normalerweise bei 1/3, während 2/3 der Gesamteisenbindungskapazität als sogenannte "latente Eisenbindungskapazität" zur Aufnahme freien Eisens zur Verfügung stehen (9, 19, 47).

Reicht die verhältnismäßig geringe Transferrinmenge - ihre Eisenbindungskapazität entspricht nur etwa 2 ‰ (!) des Gesamteisens des Organismus (123) - nicht aus um anflutende Eisenionen zu binden, so gelangen diese zur systemischen Wirkung (19, 42).

Dabei kommt in erster Linie dem zweiwertigen Eisen Bedeutung zu, da Fe(II)-Verbindungen relativ schwach dissoziieren, in wässriger Lösung annähernd neutral reagieren und Proteine nicht oder nur geringfügig denaturieren und deshalb eine beachtliche Penetrationsfähigkeit für biologische Membranen besitzen. Im Gegensatz dazu werden Fe(III)-Verbindungen als Folge ihrer eiweißfällenden Wirkung lokal am Applikationsort gebunden. Weiterhin ist bekannt, daß sie bei physiologischen pH-Werten unlöslich sind und meist in Form von hochmolekularen polynuklearen Eisen(III)-Hydroxidkomplexen vorliegen (36, 46, 101).

Die biochemischen Eisenwirkungen lassen sich einteilen in

- Wirkungen auf erregbare Strukturen,
- Wirkungen auf zelluläre und subzelluläre Membranen und
- Wirkungen auf Enzyme.

1.6.1. Wirkungen auf erregbare Strukturen

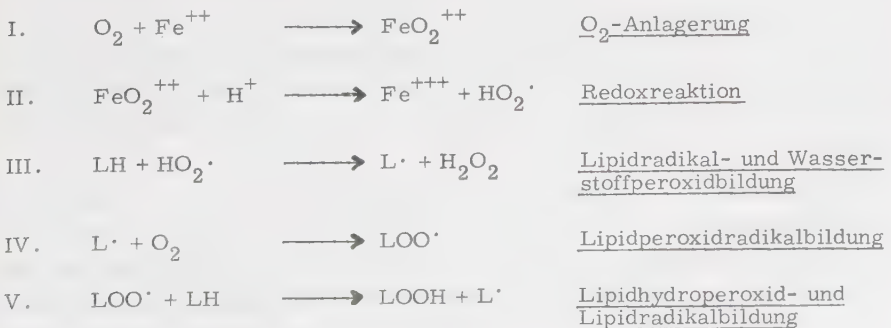
Die von GUTSCHOW und SCHMID (46) beschriebene sedierende Wirkungskomponente von Eisenpräparaten wird unter anderem auf die Verdrängung von Ca^{++} durch Fe^{++} an erregbaren Strukturen zurückgeführt. Dabei besetzt das Fe(II) -Ion den spezifischen Rezeptor für Ca^{++} , ohne dessen biologische Funktion erfüllen zu können. Dem gleichen Wirkungsmechanismus wird auch die Aufhebung der Adrenalinwirkung bzw. der Noradrenalinwirkung ("Adrenalin-auslöschphänomen") an den Gefäßen des peripheren Kreislaufs zugeschrieben (18, 79, 118). Das von ARANDA und ASENJO (1) beobachtete Vergiftungsbild, bei dem die synchrone periodische Aktivität der α -Motoneuronen im Vordergrund stand, dürfte auch auf die Einwirkung von Fe(II) -Ionen an erregbaren Strukturen im ZNS zurückzuführen sein. BROWN et al. (18) schreiben den frei im Blut auftretenden Fe(II) -Ionen eine direkte vasodepressive Wirkung zu, andere Autoren (54, 75, 103) führen diesen Effekt auch auf hohe Ferritinnengen im Serum zurück.

1.6.2. Wirkungen auf zelluläre und subzelluläre Membranen

Den morphologischen Veränderungen der Skelettmuskulatur bei akuten Eisenintoxikationen sollen folgende biochemische Veränderungen zugrunde liegen:

Der initiale Eiseneffekt ist eine Katalyse der Lipidperoxidation ungesättigter Fettsäuren biologischer Membranen (37, 40, 41, 85, 102, 126, 131).

In Anlehnung an SMITH und DUNKLEY (102) kann der Reaktionsmechanismus der Lipidperoxidation folgendermaßen skizziert werden:



Die Katalyse der Lipidperoxidation durch Übergangsmetalle führt nach Sauerstoffanlagerung an das Metall (I) zunächst zur Bildung von Hydroperoxid (II) bzw. Wasserstoffperoxid (III). Beide Radikale sind relativ stabil. Für die Anschlußreaktion bevorzugen sie Partner mit aktivierten Bindungen, z.B. ungesättigte Fettsäuren oder Lipide mit Methylengruppen in der Nachbarschaft von Doppelbindungen. Es resultiert ein Lipidradikal (III). Dieses bildet mit Sauerstoff ein Lipidperoxidradikal (IV), das seinerseits mit dem Methylenwasserstoff eines weiteren Lipidmoleküls zum stabilen Lipidhydroperoxid und einem neuen Lipidradikal reagiert (V). Letzteres geht unter Sauerstoffaufnahme wiederum in ein Lipidperoxidradikal über mit Fortsetzung der Kettenreaktion. Lipidperoxide sind bevorzugte Reaktionspartner von Metallionen, so daß von den katalysierten Hydroperoxid- und Peroxidradikalen zusätzlich ein Multiplikationseffekt auf die Kettenreaktion ausgeht (44).

Bereits 2 Stunden nach der Applikation von Eisen konnten PATTERSON et al. (84, 86) - auch bei Ferkeln die keine Vergiftungssymptome zeigten - einen Anstieg des Peroxidgehalts der Muskulatur feststellen. Dabei bestand eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Muskeleisengehalt und Peroxidspiegel.

Da die Peroxidierung der ungesättigten Fettsäuren von Zellmembranen auf die Desintegration dieser lebenswichtigen biologischen Strukturen hinausläuft (127, 131), hat sie sowohl für die Zelle als auch für den Gesamtorganismus ernste Folgen.

PATTERSON et al. (84, 86) konnten eine Freisetzung von Kaliumionen aus der Skelettmuskulatur feststellen, welche jedoch erst nach Überschreiten eines kritischen Muskelperoxidgehalts auftrat, dann jedoch eine positive Korrelation zu diesem aufwies. Entsprechend dem Abfluß von Kalium kam es zur Zunahme von Natrium und Chlorid im Muskel. Neben einer Störung der Polarisation der betroffenen Muskelzellen, führt der Abfluß von Kalium zur Erhöhung der Kaliumkonzentration im Serum. Sie verursacht Herzrhythmus- und -kontraktionsstörungen.

Ebenfalls Ausdruck des "Durchlässigwerdens" der unit membranes ist das Ansteigen der Serumaktivitäten intrazellulärer Enzyme. Zweieinhalb Stunden post injectionem sind regelmäßig erhöhte Aktivitätswerte der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und der alkalischen Phosphatase (AP), unregelmäßig der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und der Sorbit-

Dehydrogenase (SDH) meßbar. Bei tödlich endenden Fällen ist stets eine Serumaktivitätszunahme der sauren Phosphatase und der β -Glucuronidase feststellbar (84, 85, 86). Bedeutsam ist dabei die Beobachtung, daß die Muskelperoxidspiegel eine positive Korrelation zu den Serumaktivitäten der sauren Phosphatase zeigen. Da die SP ein spezifisch lysosomales Enzym ist, folgerten PATTERSON et al. (86), daß es auch an Lysosomenmembranen zu peroxidischen Schädigungen kommt. Ähnliche Hinweise finden sich auch bei WILLS et al. (129).

Das Freiwerden lysosomaler aggressiver Hydrolasen hat für die Zelle schwerwiegende Folgen, da diese Enzyme die hydrolytische Spaltung von Zellbestandteilen katalysieren, was schließlich zur "Eigenverdauung" der Zelle führt (57, 109).

WILLS (128) konnte nachweisen, daß Eisenionen auch an Mitochondrienmembranen Lipidperoxidationen hervorrufen. Als Folge werden Aktivitätsverluste membranständiger Enzyme beobachtet, was eine Hemmung des mitochondrialen Energiestoffwechsels nach sich zieht (26, 33).

Über die Schädigung von Erythrozytenmembranen mit Hämolyse durch eine eiseninduzierte Peroxidation berichten FIELDING (34), SMITH et al. (104) und MELHORN et al. (78).

Neben einer Schädigung zellulärer und subzellulärer Membranen und den daraus resultierenden Folgen sind noch andere biochemische Wirkungen durch die genannten Radikale zu erwarten. Beispielsweise konnten HORGAN et al. (51) eine starke Giftigkeit langlebiger Peroxide für Mäuse nachweisen. Sie dürfte auf der von mehreren Autoren (3, 25, 68, 72, 125) beschriebenen Oxidation von Sulfhydrylgruppen in Aminosäuren, Eiweißkörpern und Enzymen beruhen.

Im Zusammenhang mit den eiseninduzierten peroxidischen Membranschädigungen und den erwähnten toxischen Eigenschaften der entstandenen Radikale sei an dieser Stelle auf die Bedeutung des Vitamin E für die Eisenvergiftung des Ferkels hingewiesen. Die von zahlreichen Untersuchern (14, 59, 65, 66, 85, 86, 88, 108, 114) festgestellte erhöhte Eisenempfindlichkeit vitamin E-arm ernährter Tiere könnte auf dem Wegfall der dem Vitamin E zugeschriebenen antioxidativen Schutzwirkung für zelluläre und subzelluläre Membranen (52, 57, 108, 129 u.a.) beruhen. Nach neueren Untersuchungen scheint die sogenannte "antioxidative" Wirkung von Vitamin E weitgehend in der chemischen Inaktivierung peroxidischer Radikale zu bestehen, wodurch die oben besprochene Radikalket-

tenreaktion unterbrochen wird (53, 61, 64).

Diese Eigenschaften besitzen neben dem Vitamin E zum Teil auch Selenverbindungen (108, 131). Sie verteilen sich jedoch ungleichmäßig im Organismus und reichern sich z.B. in Leber, Nieren und Herz an (55, 69). Deshalb sind die Eigenschaften von Tocopherol und Selenverbindungen hinsichtlich ihres antioxidativen Effektes nicht immer vergleichbar.

1.6.3. Wirkungen auf Enzyme

Es ist keine Frage, daß eiseninduzierte oxidative Radikale auch Enzyme und andere Proteine zu schädigen vermögen. Das gilt vor allem für die oxidationsempfindlichen SH-Enzyme. Daneben ist auch eine direkte Inaktivierung von Enzymen durch Eisen naheliegend.

Als direkte, nichtradikalisch bedingte Schädigung erklären WITZLEBEN et al. (132) die Inaktivierung oxidativer Enzyme der Leber und der β -Glucoronidase. Sie konnten bei enzymhistochemischen Untersuchungen von Kaninchenlebern Aktivitätsverluste 12 Stunden post injectionem von Eisensulfat feststellen.

REISSMANN et al. (92) nahmen als Ursache für die bei Eisenintoxikationen beobachtete acidotische Stoffwechsellage, welche auf einen Anstieg des Milch- und Zitronensäuregehaltes im Serum zurückzuführen ist, eine Inaktivierung von Enzymen des Zitronensäurezyklus durch Eisenionen an. Weiterhin wurde eine hemmende Wirkung von Eisenionen auf die mitochondriale Monoaminoxidase bekannt. Die Inaktivierung dieses thiolhaltigen Enzyms führt zu verzögertem Abbau von Katecholaminen (96). DONALDSON et al. (29) berichten von der Hemmung der mikrosomalen Na^+/K^+ -ATPase durch Eisenionen und der daraus resultierenden Beeinträchtigung des aktiven Transports dieser Ionen durch Mikrosomenmembranen.

Nach neueren Untersuchungen sind für den "direkten" enzymblockierenden Effekt von Fe(II)-Ionen deren katalytische Wirkung auf die Oxidation der Sulfhydrylgruppen thiolabhängiger Enzyme (67) und die kompetitive Verdrängung von Oligometallen wie Cu^{++} und Zn^{++} durch Fe^{++} aus Enzymsystemen des Energiestoffwechsels verantwortlich (80). Eine weitere, aufgrund der chemischen Eigenschaften naheliegenden Möglichkeit der Enzyminaktivierung ist über die Entstehung stabiler Sulfide denkbar. Von Ferro- wie Ferriionen ist bekannt, daß sie beispielsweise mit Cystein eine Reihe chemisch verschiedenartiger Komplexe bilden können (56).

2. Enzymdiagnostik

Die Bestimmung von Serumenzymaktivitäten ist ein modernes Hilfsmittel der medizinischen Diagnostik. Dabei werden Abfall bzw. Anstieg von Enzymaktivitäten gemessen und aus den Ergebnissen diagnostische Rückschlüsse gezogen (98).

Eine besondere Bedeutung besitzen in diesem Zusammenhang die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Lactat-Dehydrogenase (LDH), Lactat-Dehydrogenase-1-Isoenzym (LDH-1), Creatin-Kinase (CPK), alkalische Phosphatase (AP) und saure Phosphatase (SP). Es handelt sich um sogenannte zelluläre oder Zellenzyme. Sie erfüllen ihre physiologische Aufgabe ausschließlich in den Zellen. Ihr Konzentrationsgefälle zum extrazellulären Raum ist außerordentlich groß. Ständig in den Zellmembranen ablaufende energieverbrauchende Vorgänge hindern die Enzyme an der Passage in den Extrazellulärbereich.

Zum unphysiologischen Austritt zellulärer Enzyme in das Plasma kommt es:

- bei Störung des Membranenergiestoffwechsels oder
- bei Desintegration der Membranstruktur

als Folge unterschiedlicher Noxen (98, 100). Die Freisetzung zellulärer Enzyme aus den Zellen führt zu einer Steigerung der Enzymkonzentration im extrazellulären Raum, d.h. zu einem Anstieg der Serumenzymaktivitäten. Ausdehnung und Schwere der Gewebsschädigung bestimmen dabei die Höhe der Enzym Spiegel. Da sich die einzelnen Organe und Gewebe durch ihre Enzymmuster unterscheiden, lassen die vermehrt im Serum auftretenden Enzyme Rückschlüsse auf die betroffenen Organe und den Grad der Schädigung zu (98).

Soweit bekannt, liegen die biologischen Halbwertszeiten diagnostisch gebräuchlicher Enzyme im Plasma in der Größenordnung von wenigen Stunden bis zu einigen Tagen. Über den Mechanismus der Enzymelimination aus dem Serum besteht noch wenig Klarheit (98, 100).

Die diagnostische Enzymatologie besitzt Bedeutung für die Pharmakologie und Toxikologie, da sie Rückschlüsse auf Lokalisation, Art und Schwere toxischer Nebenwirkungen von Pharmaka bzw. Giftwirkungen erlaubt (48, 63, 90, 99, 106).

Auf die diagnostische Bedeutung wichtiger Enzyme soll im folgenden kurz eingegangen werden.

2.1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

Hohe GOT-Gehalte finden sich in Leber, Myokard und Skelettmuskulatur. In weitaus geringeren Konzentrationen kommt das Enzym in Gehirn, Nieren, Pankreas, Lunge und Erythrozyten vor (58, 98).

Die GOT der Rattenleber ist zu 59% in den Mitochondrien, zu 41% im cytosolischen Raum vorhanden; sie wird daher zu den bilokulären Enzymen gezählt (90, 113). Aus der Lokalisation ergeben sich je nach Schwere der Zellschädigung verschiedene Freisetzungsraten (111). Die Serumaktivität der GOT reagiert bei Zellschädigungen sehr empfindlich, Aussagen hinsichtlich des betroffenen Organs sind jedoch zunächst nicht möglich (38, 99).

2.2. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Dieses Enzym tritt überwiegend in den Leberzellen auf (98), wo es hauptsächlich im Cytoplasma aber auch in den Mitochondrien lokalisiert ist (113). Unbedeutende Konzentrationen sind in Skelettmuskulatur, Herz, Niere, Pankreas und Erythrozyten anzutreffen (98). Die GPT-Aktivität im Serum ist ein empfindlicher Indikator für Leberparenchymschädigungen (93, 99, 111).

Die Beurteilung der Serumaktivitäten beider Transaminasen durch Bildung des sogenannten DeRitis-Quotienten GOT/GPT ist ein Hilfsmittel zur Abgrenzung von Leber- und Muskelschäden (106), denn eine Leberschädigung führt zu einem stärkeren Aktivitätsanstieg der GPT als der GOT (49, 58, 90, 106), während eine Skelettmuskel- oder Myokardschädigung einen Aktivitätsanstieg der GOT im Serum bei unveränderter GPT-Aktivität zur Folge hat (106). Somit sinkt der DeRitis-Quotient bei einer Leberschädigung ab und steigt bei einer Skelettmuskel- bzw. Myokardschädigung an (106).

2.3. Lactat-Dehydrogenase (LDH)

Die LDH ist im Gegensatz zur GPT in mehreren Organen anzutreffen. Diagnostisch bedeutende LDH-Aktivitäten finden sich in Skelett- und Herzmuskel und in der Leber. Innerhalb der Zelle ist die Enzymaktivität vor allem im Hyaloplasma lokalisiert (89).

STRUBELT et al. (106) sahen etwa gleich starke Serumaktivitätssteigerungen bei Ratten nach experimenteller Leber- bzw. Myokardschädigung. Starke

Aktivitätszunahmen im Serum wurden nach toxischen Leberschädigungen registriert (111).

Die Gesamtaktivität der LDH setzt sich aus den Aktivitäten von fünf Isoenzymen^{*)} zusammen (89). Sie sind in verschiedenen Organen unterschiedlich stark vertreten, woraus Rückschlüsse auf das betroffene Organ gezogen werden können (99).

2.4. Lactat-Dehydrogenase-1-Isoenzym (LDH-1) (α -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase)

Die Bestimmung der LDH-1-Aktivität ist ein Hilfsmittel zur Unterscheidung des Leberschadens vom Herzmuskelschaden, da im erstgenannten Organ der Gehalt dieses Enzyms relativ niedrig, im Herzmuskel jedoch relativ hoch ist. Beachtenswerte Aktivitäten der LDH-1 sind jedoch auch im Skelettmuskel zu verzeichnen (93).

Setzt man die Serumaktivitäten der Gesamt-LDH in Relation zum LDH-1-Isoenzym durch Bildung des Quotienten LDH-1/LDH, so läßt sich folgende Aussage machen: Bei akuter Leberschädigung nimmt der Quotient ab, bei akuter Myokard- bzw. Skelettmuskelschädigung steigt er an (111).

2.5. Creatin-Kinase (CPK)

Die CPK kommt in hoher Konzentration in der quergestreiften Muskulatur vor. Neben einer mitochondrialen Fraktion wird das Enzym hauptsächlich im Zytoplasma gefunden (35). Ein Anstieg ihrer Serumaktivität ist bei einer Schädigung der Skelett- oder der Herzmuskulatur zu erwarten (93, 111). Die Serumaktivität der CPK reagiert auf eine Traumatisierung quergestreifter Muskelfasern sehr empfindlich und spezifisch (38, 58).

^{*)} Isoenzyme oder Isozyme nennt man Enzyme, die gleiche Reaktionen katalysieren, aber verschiedene chemische oder physikalisch-chemische Eigenschaften haben.

2.6. Alkalische Phosphatase (AP)

Nach SULLIVAN et al. (107) sind hohe Konzentrationen des Enzyms in Leber, Duodenum und Osteoblasten anzutreffen. Das Enzym ist an der Innenseite der Zellmembranen lokalisiert (90).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist die Zunahme der Serumaktivität nach experimentellen Leberschädigungen bei Ratten (49, 90) von Bedeutung.

2.7. Saure Phosphatase (SP)

Die saure Phosphatase tritt in nahezu allen Geweben auf, vornehmlich aber in der Leber und der Muskulatur. Sie ist in den Lysosomen lokalisiert. Die saure Phosphatase dient (neben der β -Glucuronidase) als Leitenzym der Diagnose lysosomaler Membranschädigungen (24, 27, 38, 57, 85, 86, 93, 111).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methodik

1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 408 männliche und 345 weibliche klinisch gesunde Sprague-Dawley-Ratten eines institutseigenen Inzuchtstammes mit einem Gewicht von $229,0 \text{ g} \pm 29,6 \text{ g}$ bzw. $198,8 \text{ g} \pm 26,7 \text{ g}$ ($\bar{x} \pm s_x$).

Die Ratten wurden in Makrolonkäfigen in Gruppen zu 6 Stück gehalten und in der ersten Versuchsserie mit ALTROMIN Standard-Diät^(R) für Ratten und Mäuse ernährt. Die Tiere der zweiten Untersuchungsserie wurden mit einem Gewicht von ca. 60g vom Muttertier abgesetzt und über einen Zeitraum von 28 Tagen bis zum eigentlichen Versuch mit einer vitamin E-freien und mit hochungesättigten Fettsäuren angereicherten Spezialdiät der Firma ALTROMIN^{*)} gefüttert. Futter- und Wasseraufnahme waren stets ad libitum möglich.

Zur Untersuchung der Präparate I, II und III fanden männliche Tiere Verwendung, die Präparate IV und V wurden an weiblichen Ratten getestet.

1.2. Eisenpräparate

Die Auswahl der verwendeten handelsüblichen Eisenpräparate erfolgte nach ihrer von GUTSCHOW und SCHMID (45) ermittelten $LD_{50/24h}$ bei der Maus. Die Toxizität schwankt um nahezu drei Zehnerpotenzen und umfaßt nach der Einteilung von GLEASON, GOSSELIN, HODGE und SMITH (39) die Toxizitätsklassen "kaum toxisch" (Toxizitätsklasse 2) bis "extrem toxisch" (Toxizitätsklasse 5). Im einzelnen handelt es sich um folgende Präparate:

*) ALTROMIN, 4910 Lage/Lippe

Tabelle 1:

Verwendete Eisenpräparate

Präparat(Nr.)	Hersteller bzw. Vertrieb	LD _{50/24h} Maus i.p. mg/kg (45)	mg Fe(III) pro ml	Ligand (lt. Hersteller- angabe)	Tox. kl.
Ferkomin ^(R) (I)	Chemie Grünenthal	7787	100	Polymaltosat (= Dextrin)	2
Myofer ^(R) (II)	Farbwerke Hoechst	4150	100	Dextran	3
Ferrovet ^(R) (III)	Albert Albrecht	860	100	Dextran	3
Ferro- dextran ^(R) (IV)	Alvetra	410	100	Dextran	4
Jectofer ^(R) (V)	Pharma- Stern	8	50	Sorbitol- Zitratkomplex	5

1.3. Applikation und Dosierung

Die Applikation der Eisenpräparate erfolgte subkutan in eine Hautfalte am Rücken, intramuskulär in die Unterschenkelmuskulatur der linken Hinterextremität oder intraabdominal im Bereich des Mesogastriums der Versuchstiere.

Die verabreichten Eisenmengen entsprachen der beim ca. 1,5 kg schweren neugeborenen Ferkel empfohlenen Dosierung von 133 mg Fe(III)/kg Körpergewicht (9, 14).

Sie wurden in einem Volumen von 1,3 ml/kg verabreicht. Bei Präparat V war ein Volumen von 2,6 ml/kg Körpergewicht notwendig, da die Eisenkonzentration nur 50 mg/ml betrug. Es wurde zusätzlich in einer Dosierung von 25 mg/kg Ratte und in der für den anämischen Menschen vorgeschriebenen therapeutischen Dosierung von 1,5 mg Fe(III)/kg Körpergewicht angewendet.

Der Zeitraum zwischen Injektion und Entblutung der Versuchstiere betrug 6, 12 oder 24 Stunden (bei dem extrem toxischen Präparat Jectofer^(R) (45) wurden ausschließlich die 12-Stunden-Werte ermittelt) im ersten Versuchsabschnitt mit konventionell gehaltenen Tieren und 12 Stunden bei vitamin E-Frei ernährten Tieren.

Da die physiologischen Enzymaktivitäten bei verschiedenen Untersuchern je

nach Tierstamm, Tierhaltung, Geschlecht, Alter und Blutgewinnungstechnik verschieden angegeben werden (99, 122) und auch mit einem Einfluß der Applikationsart und des Zeitpunktes der Blutentnahme post applicationem auf die Enzymaktivitäten gerechnet werden mußte, wurden gesonderte Kontrollwerte mit physiologischer Kochsalzlösung für männliche und weibliche Versuchstiere bei jeder Dosierung, Applikationsart und Dauer zwischen Applikation und Blutgewinnung ermittelt. Dies war auch deshalb notwendig, weil beim kleinen Versuchstier eine kurzfristige zweimalige Blutentnahme zu unkontrollierbaren Störeffekten führt.

Zusätzlich wurden Enzymmessungen bei 18 männlichen und 18 weiblichen unbehandelten Ratten vorgenommen.

1.4. Enzymbestimmungen

1.4.1. Blut- und Serumgewinnung

Das Blut der Versuchstiere wurde in Allgemeinanästhesie (100 mg Thio-butabarbital-Natrium^{*)} pro kg Körpergewicht i.p. in 5 %iger Lösung) nach der von WEIGERT (121) entwickelten Methode gewonnen. Dabei legt man die Aorta abdominalis durch einen medianen und zwei seitliche Bauchdeckenschnitte und teilweise Exenteration der Bauchorgane frei. In das gestaute Gefäß wird ein Teflonkatheter eingeführt und das Tier durch diesen entblutet.

Nach 2 x 5 Minuten langem Zentrifugieren des Blutes bei 3000 Upm und Zusatz von Trennmittel MERCK^(R)**) vor der zweiten Zentrifugation schloß sich unverzüglich die Aktivitätsbestimmung der abgeheberten Seren an.

*) Inactin^(R), PROMONTA, Hamburg

**) Trennmittel MERCK^(R), MERCK, Darmstadt (Best.Nr. 10103)

1.4.2. Testsätze

Zur Durchführung der Enzymbestimmungen wurden folgende Testsätze verwendet:

Tabelle 2: Testsätze zur Enzymbestimmung

Biochemica Test Combination BOEHRINGER MANNHEIM	Best.Nr.	Monotest ^(R) BOEHRINGER MANNHEIM	Best.Nr.
Alkalische Phosphatase	15873	GOT	15871
Saure Phosphatase	15988	GPT	15878
LDH	15948	CPK aktiviert	15873
LDH-1-Isoenzym	15953		

1.4.3. Messung der Enzymaktivitäten

Von jedem Versuchstier wurden die Serumaktivitäten folgender Enzyme bestimmt:

- Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT),
- Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT),
- Lactat-Dehydrogenase (LDH),
- Lactat-Dehydrogenase-1-Isoenzym (LDH-1),
- Creatin-Kinase (CPK),
- Alkalische Phosphatase (AP),
- Saure Phosphatase (SP).

Alle Aktivitätsbestimmungen wurden nach der Mikrolitermethode mit den oben angegebenen Testsätzen und einem Enzymeßplatz 5086 der Firma EPPENDORF^{*)}, bestehend aus Photometer 1101 M mit temperiertem Küvettenwechselautomat 2705, Umwälzthermostat 2760, Kompensationsschreiber 6511 sowie Enzymauswerter 2780 durchgeführt.

^{*)} EPPENDORF GERÄTEBAU, NETHELER UND HINZ GMBH, Hamburg

Die Bestimmung der Enzymaktivität erfolgte bei 25°C nach dem kinetischen Meßprinzip mit Ausnahme der sauren Phosphatase. Hier wurde die Extinktionsänderung nach 30 Minuten langer Inkubation bei 37°C relativ zu einem Leerwert gemessen.

Die hohe LDH-Aktivität bei den Versuchsratten machte eine Serumverdünnung 1 : 11 mit physiologischer Kochsalzlösung (entsprechend der Arbeitsanleitung der Firma BOEHRINGER MANNHEIM) erforderlich.

Zur Kontrolle der Enzymbestimmungen wurden in regelmäßigen Abständen folgende Enzymkontrollseren mitgemessen:

Precinorm E^(R) (Best.Nr. 15918) der Firma BOEHRINGER MANNHEIM bzw. Enzymkontrollseren ASID I und ASID II der Firma ASID BONZ UND SOHN, Lohhof bei München.

2. Ergebnisse

Die beschriebenen Versuche führten zu den in den folgenden Tabellen und Abbildungen dargelegten Ergebnissen. Sie sind als arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) der Serumaktivitäten und deren mittlerer Streuung (s_x^2) in mU/ml Serum angegeben.

Die Quotienten GOT/GPT bzw. LDH-1/LDH wurden jeweils aus den Einzelwerten der entsprechenden Enzyme berechnet.

2.1. Enzymaktivitäten der Kontrolltiere

Die bei den Kontrolltieren erhobenen Befunde sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Sie erlauben nach statistischer Auswertung mit Hilfe der Varianzanalyse sowie des t- und des U-Testes folgende Aussagen:

- a) Die Applikation von 1,3 bzw. 2,6 ml physiologischer Kochsalzlösung pro kg Ratte verursacht keine signifikante Beeinflussung der Serumaktivität der GOT, GPT, CPK, LDH, LDH-1, AP und SP.
- b) Gleichfalls ohne Wirkung auf die Serumaktivität dieser Enzyme ist die Applikationsart (subkutan, intramuskulär, intraperitoneal), auf welche die Kochsalzlösung verabreicht wird und die Zeit (6, 12 und 24 Stunden) zwischen Applikation und Blutentnahme.
- c) Geschlechtsspezifische Unterschiede ergeben sich für GOT, GPT, LDH, AP, SP und die Quotienten GOT/GPT und LDH-1/LDH bei konventionell ernährten Ratten. Bei vitamin E-armen Tieren sind solche Unterschiede nur bei den Enzymen GOT, AP und SP gegeben.

2.2. Enzymaktivitäten der Versuchstiere

Die Serumaktivitäten der mit den Testpräparaten behandelten Ratten sind in den Tabellen 4 - 15 angegeben. Die zugehörigen Irrtumswahrscheinlichkeiten ($p <$) für signifikante Unterschiede zu den Kontrollwerten sind bei jeder Tabelle aus der Fußnote ersichtlich. Nichtsignifikante Abweichungen blieben ohne Bezeichnung.

Tab. 3: Kontrollwerte der Serumaktivitäten der unterschiedlichen Enzyme

Fütterung	Geschlecht	n ^a	GOT	GPT	GOT GPT	LDH	LDH-1	LDH-1 LDH	CPK	AP	SP
Normal- futter	♂	92	45,8 ^b ± 0,7	19,8 ^b ± 0,4	2,4 ^b ± 0,1	377,2 ^c ± 23,1	89,4 ± 4,9	0,27 ^b ± 0,01	78,0 ± 2,9	62,6 ^b ± 2,0	32,3 ^b ± 0,7
	♀	114	43,2 ± 0,7	16,9 ± 0,3	2,6 ± 0,04	589,6 ± 34,9	92,7 ± 3,8	0,20 ± 0,01	70,4 ± 2,3	36,0 ± 1,2	26,6 ± 0,5
Vit.- freie Diät	♂	24	40,9 ^c ± 0,6	10,6 ± 0,3	4,0 ± 0,1	416,6 ± 70,5	66,5 ± 5,5	0,20 ± 0,02	74,5 ± 3,5	89,3 ^b ± 3,7	33,5 ^b ± 0,9
	♀	24	38,7 ± 1,2	10,1 ± 0,2	4,0 ± 0,2	283,5 ± 20,0	57,5 ± 4,7	0,22 ± 0,01	74,9 ± 3,8	65,5 ± 4,1	26,7 ± 1,1

a: Anzahl der Versuchstiere

b: $p < 0,05$ für Unterschied zu weiblichen Kontrolltieren (t-Test)c: $p < 0,05$ für Unterschied zu weiblichen Kontrolltieren (U-Test)

Tab. 4: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
sc.	8	566,4 ^b ±106,4	199,4 ^b ± 18,3	2,8 ±0,4	1655,9 ^a ±189,7	206,0 ^b ± 49,3	0,12 ^a ±0,02	117,3 ± 17,2	59,0 ^a ± 3,8	49,9 ^b ±6,03
im.	8	660,1 ^b ±187,6	229,3 ^b ± 66,9	2,4 ±0,4	1670,3 ^b ±357,2	366,1 ^b ±143,5	0,19 ±0,02	179,1 ^b ± 61,2	54,3 ^a ± 7,2	55,3 ^b ±7,91
ip.	10 ^c	961,8 ^b ±297,6	376,0 ^b ± 93,3	2,6 ±0,4	4297,0 ^b 1639,1	1176,5 ^b ±420,7	0,30 ^a ±0,03	114,0 ± 19,3	64,2 ^a ±10,9	54,9 ^b ±9,9

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

c: 2 Tiere verwendet

Tab. 5: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden
nach Verabreichung von 25 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer®(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{GOT}{GPT}$	LDH	LDH-1	$\frac{LDH-1}{LDH}$	CPK	AP	SP
sc.	13 ^c	234,2 ^a ± 36,0	31,1 ^b ± 4,8	4,9 ±0,2	1693,6 ^b ±295,5	213,5 ^b ± 29,2	0,14 ^a ±0,02	175,8 ^b ± 19,5	55,9 ± 3,7	42,9 ^a ± 3,3
im.	12 ^d	131,2 ^b ± 20,1	56,0 ^b ± 8,0	4,8 ±0,8	2278,3 ^b ±337,8	159,0 ^a ± 50,3	0,11 ^a ±0,01	223,3 ^a ± 39,3	102,0 ±15,5	53,6 ^a ± 1,7
ip.	10 ^e	315,0 ^b ± 64,0	64,5 ^b ± 9,0	4,2 ±0,4	1943,2 ^b ±182,4	247,5 ^a ± 34,9	0,13 ^a ±0,02	225,2 ^b ± 31,9	86,8 ±11,7	58,0 ^a ± 3,4

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

c: 3 Tiere verwendet

d: 8 Tiere verwendet

e: 4 Tiere verwendet

Tab. 6: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 25 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
sc.	8	66,3 ^a ± 5,3	26,9 ^a ± 2,5	2,5 ± 0,1	172,8 ^b ± 32,1	51,6 ± 7,7	0,33 ^a ± 0,03	35,5 ^a ± 4,4	43,9 ± 3,1	31,0 ± 1,4
im.	8	64,9 ^b ± 3,5	26,5 ^b ± 1,9	2,5 ± 0,1	159,6 ^a ± 21,8	66,9 ^a ± 7,6	0,44 ^a ± 0,01	46,3 ± 3,7	36,1 ± 3,7	24,8 ^a ± 1,5
ip.	8	66,4 ^b ± 6,6	23,3 ^b ± 3,0	2,9 ± 0,1	293,6 ^b ± 45,9	74,6 ^a ± 11,9	0,26 ^a ± 0,03	61,3 ^a ± 6,4	43,0 ± 5,9	32,1 ^a ± 1,8

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 7: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 1,5 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{GOT}{GPT}$	LDH	LDH-1	$\frac{LDH-1}{LDH}$	CPK	AP	SP
sc.	8	43,8 ± 1,9	10,6 ± 0,7	4,2 ± 0,2	921,1 ^a ± 66,9	68,8 ± 5,9	0,08 ^a ± 0,03	66,8 ± 3,4	62,9 ± 8,6	26,1 ± 0,6
im.	8	44,6 ± 1,4	9,8 ± 0,7	4,7 ± 0,4	1059,1 ^b ± 92,5	106,8 ^a ± 10,1	0,10 ^a ± 0,03	90,9 ± 4,0	107,9 ± 6,2	27,8 ± 0,7
ip.	8	43,1 ± 1,7	10,5 ± 0,4	4,1 ± 0,1	1111,1 ^a ± 83,7	95,0 ^a ± 8,3	0,09 ^a ± 0,02	64,4 ± 3,4	59,9 ^a ± 6,4	31,8 ± 1,6

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 3:
Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten nach (R)
Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrodextran

t post appl. (h)	Appl.	n	GOT	GPT	GOT GPT	LDH	LDH-1	LDH-1 LDH	CPK	AP	SP
6	sc.	8	44,8 ± 2,9	14,8 ± 0,9	3,1 -0,2	1213,1 ^b -281,6	87,4 -26,1	0,07 ^a -0,01	90,9 -22,0	27,4 ± 3,1	22,5 ^a ± 1,7
	im.	8	44,6 ± 2,3	17,2 -0,7	2,6 -0,2	1311,9 ^a -173,2	79,3 ^b ± 9,5	0,06 ^a -0,01	99,4 ^a ± 9,9	33,6 ± 2,5	23,5 ± 1,2
	ip.	8	45,0 ± 1,8	14,3 ^a ± 0,6	3,2 ^a -0,2	1030,9 ^a -135,7	57,4 ^a ± 4,9	0,06 ^a -0,01	51,8 ^a ± 2,9	32,9 ± 1,6	24,3 ^a ± 1,0
12	sc.	8	44,0 ± 2,2	16,4 ± 0,9	2,7 -0,1	540,0 -113,1	121,0 -22,5	0,26 -0,02	79,3 -10,9	32,5 ± 2,5	22,4 ± 1,3
	im.	8	52,9 ^a ± 4,9	16,0 ± 0,7	3,3 ^a -0,3	1403,8 ^a -173,5	146,1 ^b ± 25,0	0,10 ^a -0,01	103,9 ^a ± 13,1	37,6 ± 2,6	26,9 ± 1,4
	ip.	8	50,9 ± 2,5	12,0 ^a ± 0,6	4,2 ^a -0,2	1062,6 ^a -103,3	108,4 ± 21,9	0,10 ^a -0,01	73,4 ± 13,2	48,0 ^a ± 5,1	26,0 ± 1,7
24	sc.	10	53,0 ± 3,4	15,3 ± 0,8	3,3 ^a -0,2	206,2 ^a -27,9	99,3 ± 14,5	0,44 ^a -0,02	169,9 ^b ± 24,6	75,2 ^a ± 5,8	17,8 ^a ± 1,7
	im.	8	45,6 ^a ± 1,7	14,2 ^b ± 1,1	3,5 ^a ± 0,2	305,0 ^a ± 58,3	92,6 ± 13,5	0,35 ^a -0,03	99,9 ^a ± 14,8	98,4 ^a ± 7,6	16,0 ± 2,8
	ip.	8	56,6 ^a ± 4,9	18,5 ^a ± 0,6	3,1 ^a -0,3	271,1 -108,3	236,4 ^a ± 26,3	0,18 ^a -0,01	101,8 ^a ± 10,3	36,9 ± 4,3	22,2 ^a ± 1,2

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 9: Serumenzymaktivität vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrodextran (R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
sc.	8	52,1 ^a ± 3,1	10,4 ± 0,6	5,0 ± 0,2	937,0 ^a ± 77,8	93,9 ^a ± 11,3	0,10 ^a ± 0,01	118,8 ^a ± 12,0	55,1 ± 4,3	27,6 ± 1,3
im.	8	70,8 ^a ± 3,5	17,1 ^b ± 0,5	4,5 ± 0,5	1546,4 ^b ± 134,0	188,5 ^a ± 28,8	0,12 ^a ± 0,02	142,6 ^a ± 15,6	61,4 ± 5,6	27,1 ± 1,5
ip.	8	53,5 ^a ± 2,6	13,6 ^a ± 0,8	4,0 ± 0,2	1320,1 ^b ± 110,6	126,1 ^a ± 19,4	0,09 ^a ± 0,01	97,8 ^a ± 8,9	69,2 ^a ± 7,5	27,6 ± 2,1

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 10: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrovet^(R)

† post appl. (h)	Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{GOT}{GPT}$	LDH	LDH-1	$\frac{LDH-1}{LDH}$	CPK	AP	SP
6	sc.	8	42,1 ^a ± 1,2	17,3 ± 0,5	2,5 -0,1	1367,6 ^a ± 125,0	83,0 ± 10,1	0,06 ^a ± 0,01	67,9 ± 6,7	56,6 ± 4,2	30,9 ± 1,0
	im.	8	44,9 ± 1,1	15,6 ^a ± 0,6	2,9 ^a -0,1	781,0 ^a ± 48,9	81,6 ± 5,1	0,12 ^b ± 0,01	85,8 ± 7,1	52,0 ± 2,5	31,7 ± 1,0
	ip.	8	43,8 ^a ± 3,0	14,1 ^a ± 1,1	3,1 ^a -0,2	1249,9 ^b ± 154,5	125,8 ^a ± 14,8	0,11 ^b ± 0,01	92,8 ± 10,3	55,0 ± 3,8	21,7 ^a ± 2,6
12	sc.	8	43,8 ^a ± 1,6	16,3 ^a ± 1,1	2,9 ^a -0,2	527,4 ^a ± 61,5	136,0 ^a ± 23,7	0,17 ^a ± 0,01	91,3 ± 10,0	56,7 ± 7,4	27,9 ± 1,8
	im.	8	42,6 ^a ± 2,8	19,0 ± 0,7	2,1 -0,2	1076,5 ^a ± 142,7	160,9 ^b ± 37,5	0,18 ^a ± 0,03	110,9 ^a ± 16,3	55,0 ± 3,5	42,0 ^a ± 4,2
	ip.	8	40,9 ^a ± 1,3	11,5 ^a ± 0,6	3,6 ^a -0,2	1133,6 ^a ± 136,9	181,8 ^a ± 27,3	0,16 ^a ± 0,02	102,8 ± 19,7	35,1 ^a ± 2,7	39,6 ^a ± 3,3
24	sc.	8	45,8 ± 1,9	18,4 ± 0,3	2,5 -0,1	1344,6 ^a ± 143,6	214,8 ^a ± 15,4	0,15 ^a ± 0,02	129,7 ^a ± 5,7	61,1 ± 2,5	30,7 ± 1,5
	im.	8	53,3 ^a ± 2,1	19,9 0,9	2,7 ^a -0,2	1525,1 ^b ± 181,1	259,8 ^b ± 31,9	0,18 ^a ± 0,02	132,0 ^a ± 17,6	84,1 ^a ± 5,0	30,7 ± 1,3
	ip.	8	45,0 ± 1,4	13,5 ^a ± 0,9	3,4 ^a -0,2	1704,9 ^b ± 154,2	240,3 ^a ± 22,6	0,15 ^b ± 0,01	128,0 ^a ± 13,3	61,4 ± 4,5	30,9 ± 1,9

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 11: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrovet^(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
sc.	8	44,1 ^a ± 1,0	11,4 ± 0,6	3,7 ± 0,3	808,6 ^a ± 133,8	74,1 ± 14,4	0,08 ^a ± 0,01	94,8 ^a ± 12,7	67,3 ^a ± 8,8	41,1 ^a ± 2,0
lm.	8	50,4 ^a ± 2,3	11,3 ± 0,5	4,7 ± 0,1	1263,9 ^a ± 133,0	147,3 ^a ± 20,8	0,10 ^a ± 0,01	134,6 ± 18,5	101,9 ± 7,3	36,9 ± 1,5
ip.	8	51,3 ^a ± 1,9	11,0 ± 0,6	4,5 ± 0,2	943,1 ^a ± 65,9	70,6 ± 9,2	0,09 ^a ± 0,01	80,8 ± 7,0	62,3 ^a ± 5,4	44,6 ^a ± 2,4

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 12:

Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten nach^(R)
Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Myofer^(R)

i post appl. (h)	Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
6	sc.	8	50,7 ^b + 1,5	20,6 + 1,1	2,5 - 0,1	1037,4 ^a + 157,5	102,3 + 23,7	0,09 ^a - 0,01	61,1 + 2,8	61,9 + 5,6	41,6 ^a + 1,3
	im.	8	52,8 + 3,2	19,8 + 1,2	2,8 ^a - 0,3	1041,0 ^a + 80,1	117,4 ^a + 16,1	0,11 ^a - 0,01	99,1 ^a + 7,9	59,9 + 3,6	48,0 ^a + 3,8
	ip.	8	--	--	--	1149,1 ^a + 126,8	99,0 + 8,5	0,09 ^a - 0,01	99,1 ^a + 13,6	60,0 + 2,9	32,4 + 1,2
12	sc.	8	58,9 ^a + 3,2	26,0 ^a + 2,1	2,1 - 0,5	1925,1 ^b + 176,7	188,1 ^a + 24,5	0,10 ^a - 0,01	137,9 ^a + 19,5	82,1 + 3,3	39,7 ^a + 2,3
	im.	8	57,8 ^b + 4,3	27,8 ^a + 1,0	2,8 - 0,2	888,5 ^a + 73,2	94,4 + 8,7	0,11 ^a - 0,01	80,6 + 6,4	63,1 + 3,3	31,4 + 1,2
	ip.	8	--	--	--	845,3 ^a + 82,1	91,5 + 15,4	0,11 ^b - 0,01	95,0 + 11,9	74,8 ^a + 4,8	33,5 + 2,5
24	sc.	8	40,0 ^a + 1,9	19,1 + 1,4	2,4 - 0,2	733,0 ^b + 140,5	85,3 + 7,7	0,19 ^b - 0,06	64,6 + 9,3	75,1 + 6,9	30,1 + 1,0
	im.	8	51,5 + 3,6	24,4 ^a + 1,4	2,1 - 0,1	506,0 ^a + 65,9	107,1 + 10,3	0,23 - 0,03	60,0 ^a + 9,8	59,1 + 4,8	31,7 + 2,2
	ip.	8	--	--	--	1399,8 + 275,7	123,0 ^a + 13,8	0,10 ^a - 0,01	108,6 ^a + 9,2	72,0 + 4,4	31,2 + 1,7

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

c: Wert nicht bestimmbar, wegen starker Braunfärbung des Serums

Tab. 13: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Myofer^(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
sc.	8	42,5 ± 1,6	12,4 ^a ± 0,7	3,4 ± 0,1	1027,1 ^a ± 85,8	113,1 ^a ± 10,6	0,11 ^a ± 0,01	106,6 ^a ± 7,4	85,3 ± 5,6	34,8 ± 1,7
im.	8	49,8 ^b ± 3,1	13,1 ^a ± 0,6	3,8 ± 0,2	979,8 ^a ± 125,6	75,1 ± 4,5	0,08 ^a ± 0,01	85,0 ± 5,1	91,1 ± 7,5	28,5 ^a ± 1,8
ip.	8	-- c	-- c	-- c	1058,5 ^a ± 66,6	130,5 ^a ± 11,7	0,13 ^a ± 0,01	116,6 ^a ± 10,9	86,8 ± 3,3	24,7 ^a ± 0,8

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

c: Wert nicht bestimmbar, wegen starker Braunfärbung des Serums

Tab. 14: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten nach (R)
Verabreichung von 123 mg/kg Eisen des Präparates Ferkomin

t post app. (h)	Appl.	n	GOT	GPT	GOT GPT	LDH	LDH-1	LDH-1 LDH	CPK	AP	SP
6	sc.	8	49,0 ± 2,1	13,6 ± 0,5	2,6 -0,1	1824,1 ^b ± 166,3	79,1 ± 16,2	0,04 ^b ± 0,01	71,1 ± 7,0	64,3 ± 3,6	33,1 ± 2,7
	im.	8	45,0 ± 3,3	15,9 ^a ± 1,2	2,9 ^b -0,2	966,9 ^b ± 37,9	64,4 ± 6,7	0,07 ^b ± 0,01	74,5 ± 4,2	65,9 ± 4,4	37,6 ^a ± 0,8
	ip.	8	52,0 ^a ± 3,1	24,1 ^a ± 1,1	2,2 -0,2	1328,0 ^b ± 229,6	80,4 ± 9,1	0,07 ^b ± 0,01	92,1 ± 11,4	65,4 ± 2,7	32,0 ± 1,6
	sc.	9	39,2 ^b ± 3,7	20,3 ± 1,0	2,2 -0,1	206,2 ^a ± 25,3	39,8 ^a ± 7,5	0,20 ± 0,02	58,7 ^a ± 4,3	74,0 ± 5,8	23,3 ^a ± 1,8
12	im.	8	50,3 ^a ± 1,6	18,5 ± 1,6	2,9 ^b -0,3	364,1 ± 54,8	110,3 ± 21,6	0,29 ± 0,03	95,6 ± 10,1	74,5 ± 4,6	28,1 ± 1,1
	ip.	8	47,2 ^a ± 2,9	21,3 ± 1,4	2,2 -0,1	196,3 ^a ± 21,7	38,4 ^a ± 3,8	0,19 ± 0,02	87,5 ± 12,2	55,8 ± 4,4	20,4 ^a ± 2,5
	sc.	8	46,1 ± 1,4	18,8 ± 0,3	2,5 -0,1	473,0 ± 42,3	115,7 ^a ± 17,6	0,23 ± 0,02	94,1 ± 6,3	62,6 ± 6,8	44,3 ^a ± 1,6
24	im.	8	48,9 ± 2,1	17,6 ± 0,5	2,8 ^b -0,2	1115,6 ^b ± 171,2	177,8 ^a ± 22,9	0,18 ^a ± 0,02	149,0 ^a ± 11,1	75,4 ^a ± 4,1	35,2 ^a ± 1,6
	ip.	10	46,7 ± 3,1	19,6 ± 1,4	2,5 -0,3	393,6 ± 56,4	76,8 ± 16,8	0,18 ^a ± 0,02	80,0 ± 14,0	73,2 ± 5,3	30,2 ± 1,9

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Tab. 137
Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden
nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Fercommun
(R)

Appl.	n	GOT	GPT	$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$	LDH	LDH-1	$\frac{\text{LDH-1}}{\text{LDH}}$	CPK	AP	SP
sc.	8	47,8 ± 1,3	11,3 ± 0,6	4,3 ± 0,2	1278,9 ^a ± 107,5	111,9 ± 13,7	0,09 ^a ± 0,01	96,9 ± 6,7	85,4 ± 5,9	39,2 ± 1,7
im.	8	43,5 ± 2,8	10,5 ± 0,5	4,1 ± 0,3	338,3 ^b ± 32,6	33,9 ± 9,6	0,25 ^a ± 0,01	92,6 ± 10,7	92,0 ± 10,7	35,8 ± 1,7
ip.	8	41,0 ± 2,0	9,9 ± 0,4	4,2 ± 0,2	356,1 ± 24,6	86,3 ± 10,5	0,25 ± 0,02	86,9 ± 6,7	88,0 ± 5,7	35,2 ± 1,5

a: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (t-Test)

b: $p < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe (U-Test)

Die Ergebnisse der vorstehenden Tabellen 4 - 15 sind in den folgenden 20 Abbildungen graphisch dargestellt. Sie werden hier der Übersichtlichkeit wegen in Prozent der Kontrollwerte (100%) angegeben.

Die verschiedenen Applikationsarten sind durch folgende Raster kenntlich gemacht:



subkutan



intramuskulär



intraperitoneal

Leere Säulen bedeuten nicht signifikante Veränderungen der Enzymaktivität im Vergleich zur entsprechenden Kontrollgruppe.

Die Enzymaktivität ist (an der Ordinate der Abbildungen) mit A symbolisiert.

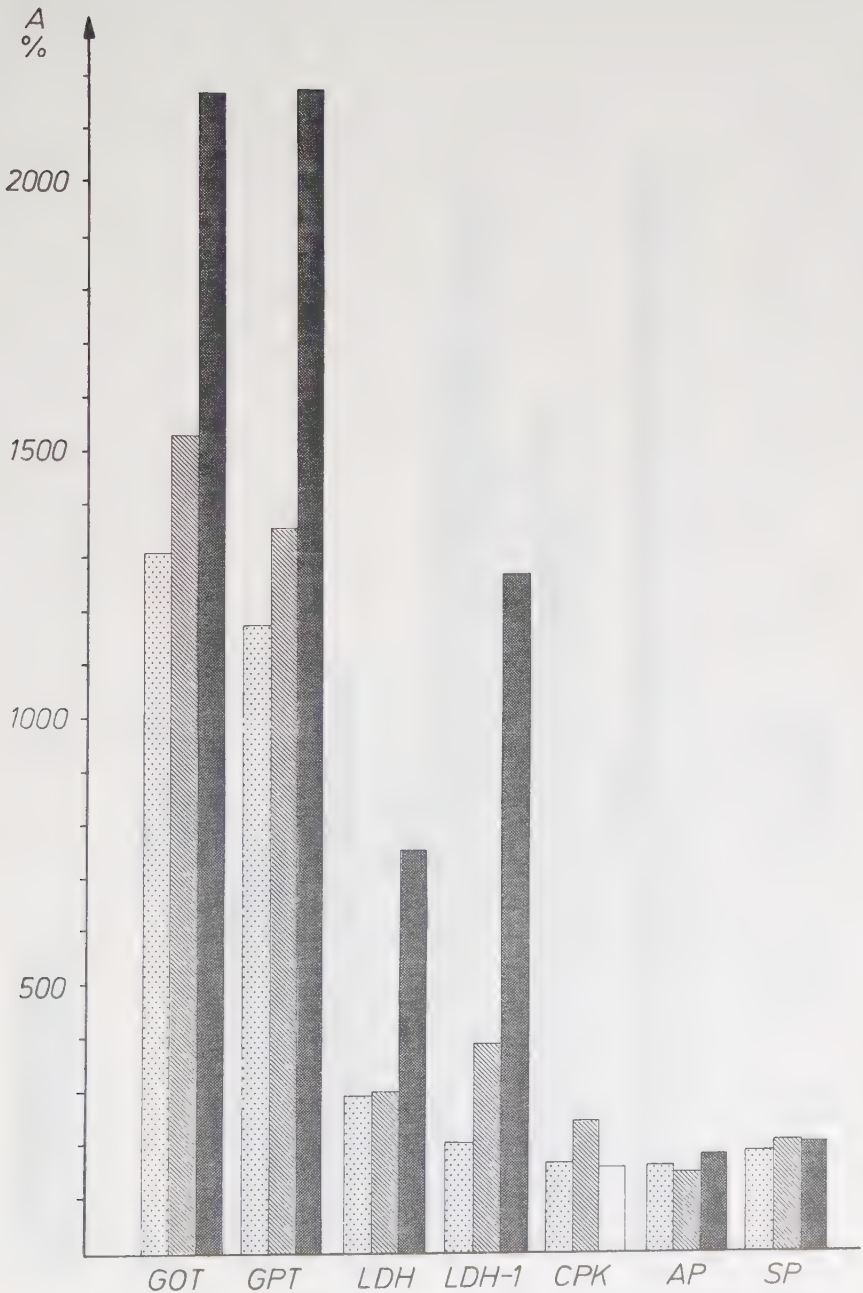


Abb. 1: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

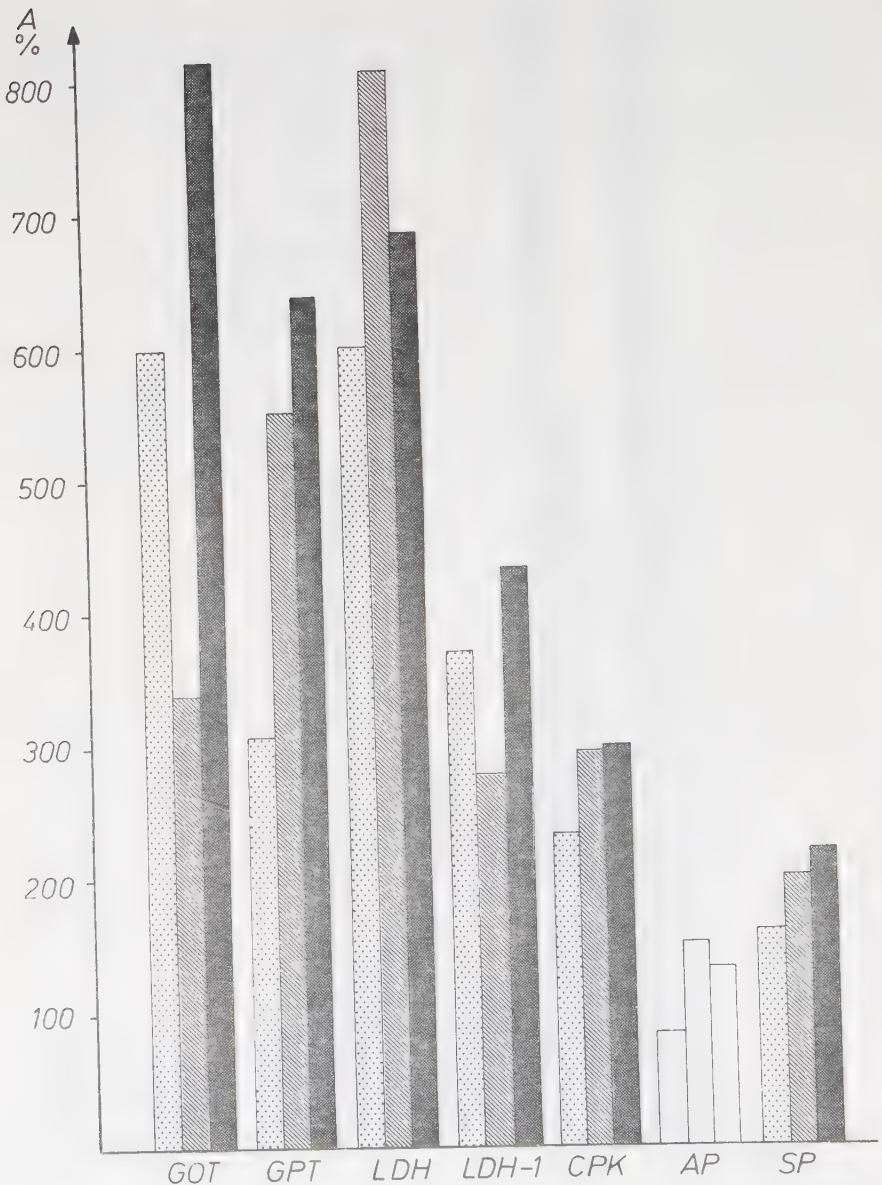


Abb. 2: Serumenzymaktivität vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 25 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

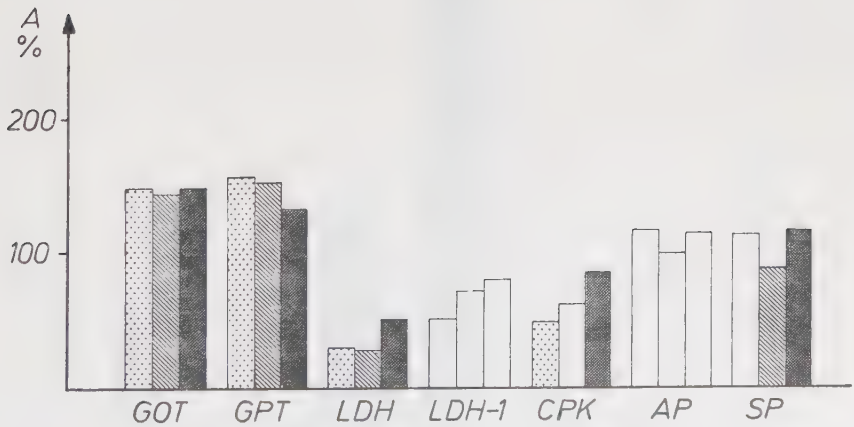


Abb. 3: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 25 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

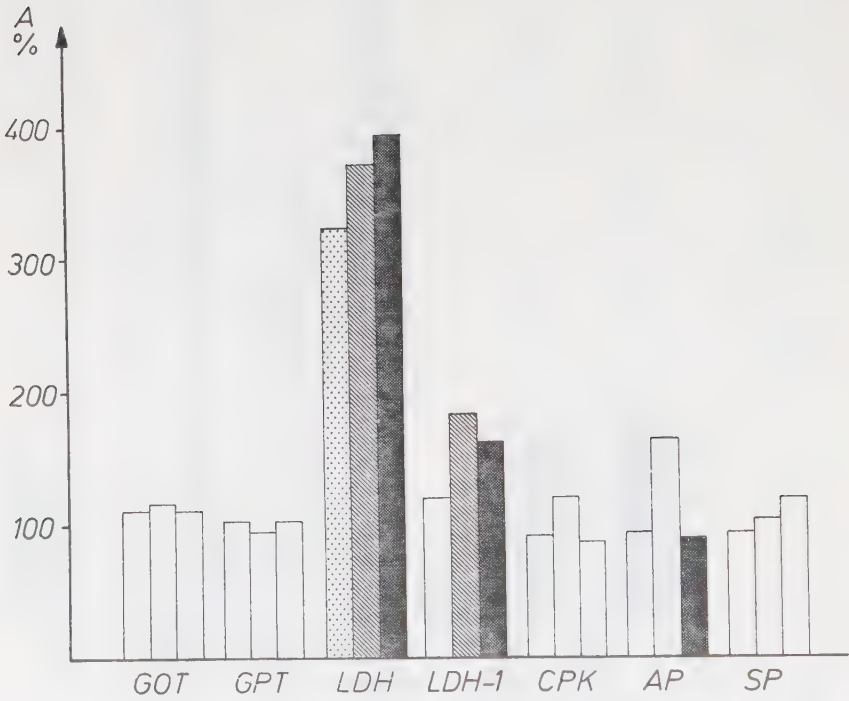


Abb. 4: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 1,5 mg/kg Eisen des Präparates Jectofer^(R)

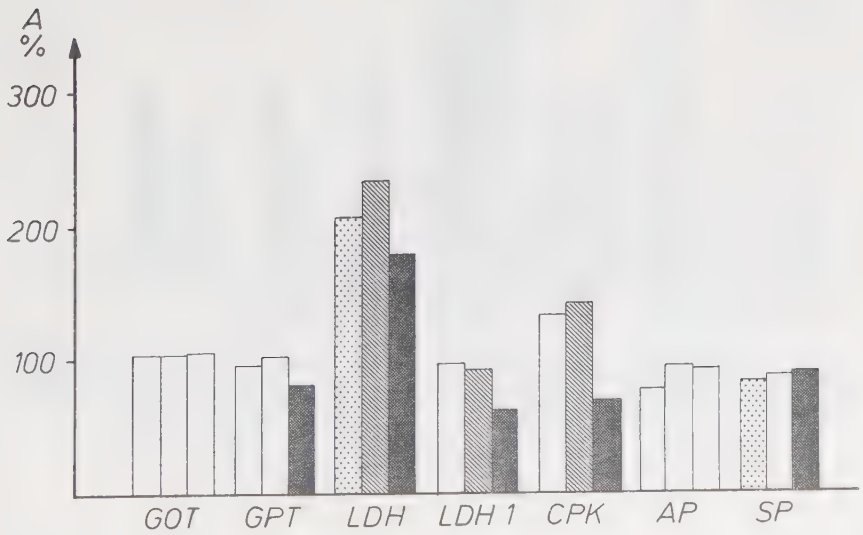


Abb. 5: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 6 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrodextran^(R)

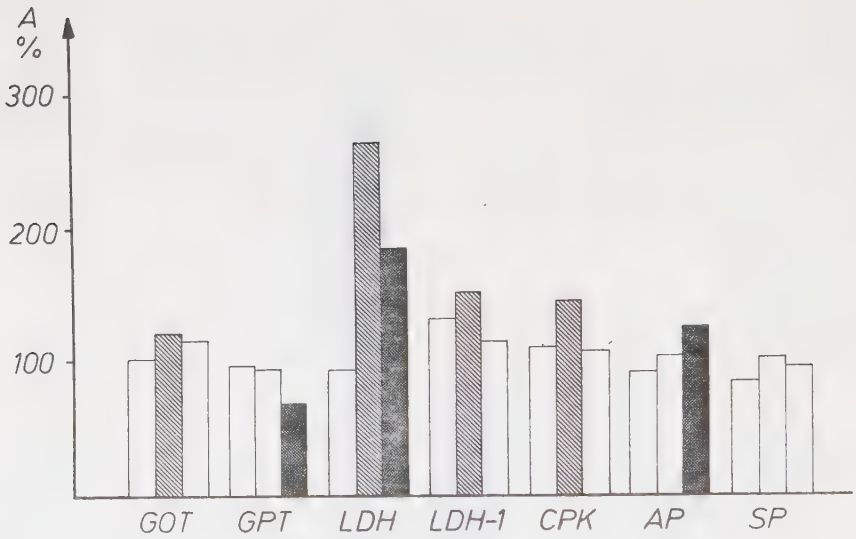


Abb. 6: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrodextran^(R)

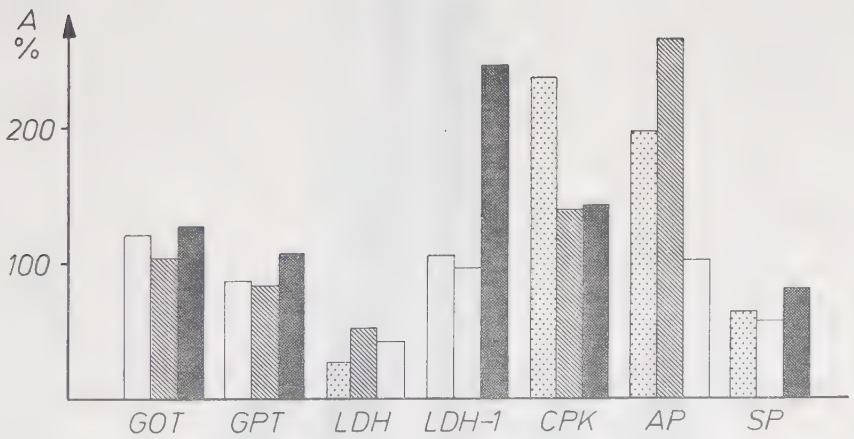


Abb. 7: Serumentzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 24 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrodextran^(R)

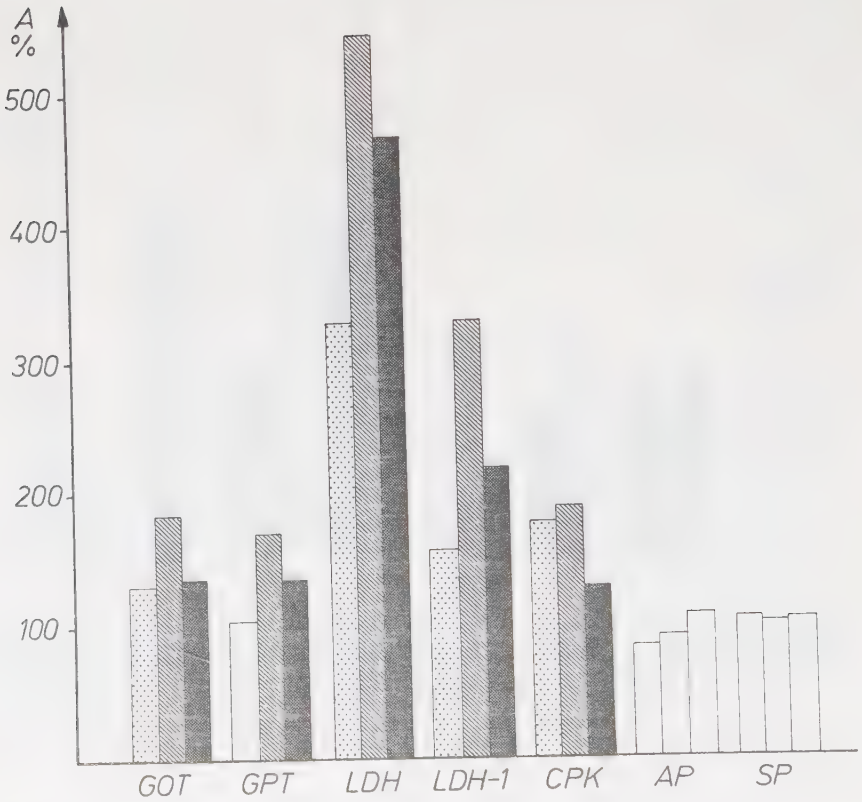


Abb. 8: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrodextran^(R)

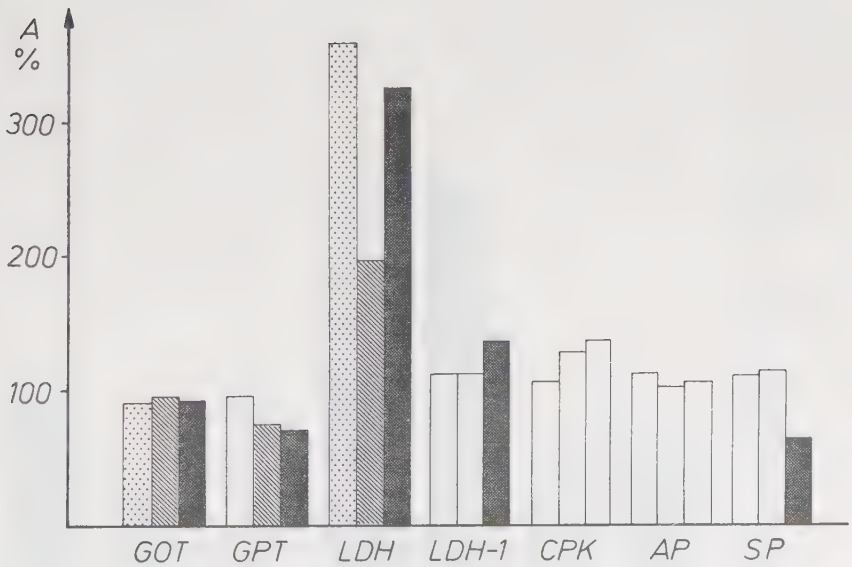


Abb. 9: Serumentzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 6 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrovet^(R)

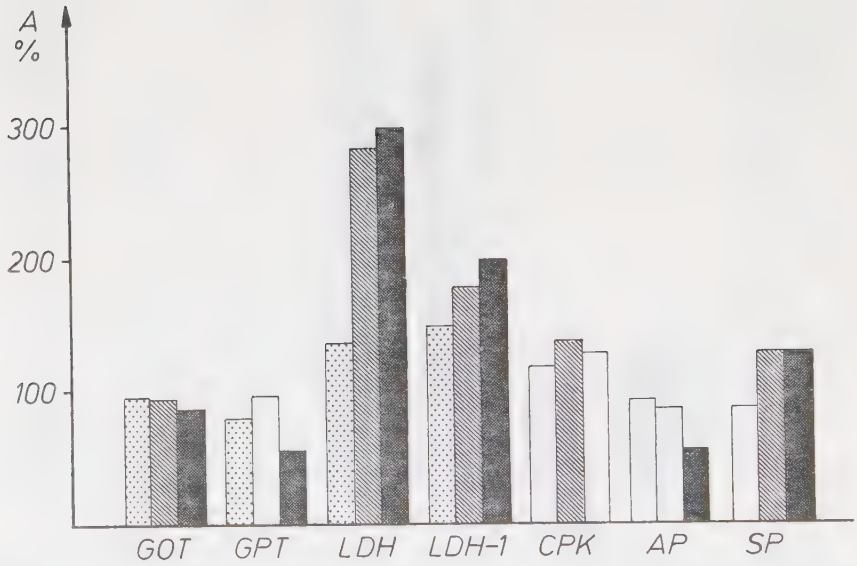


Abb. 10: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrovit^(R)

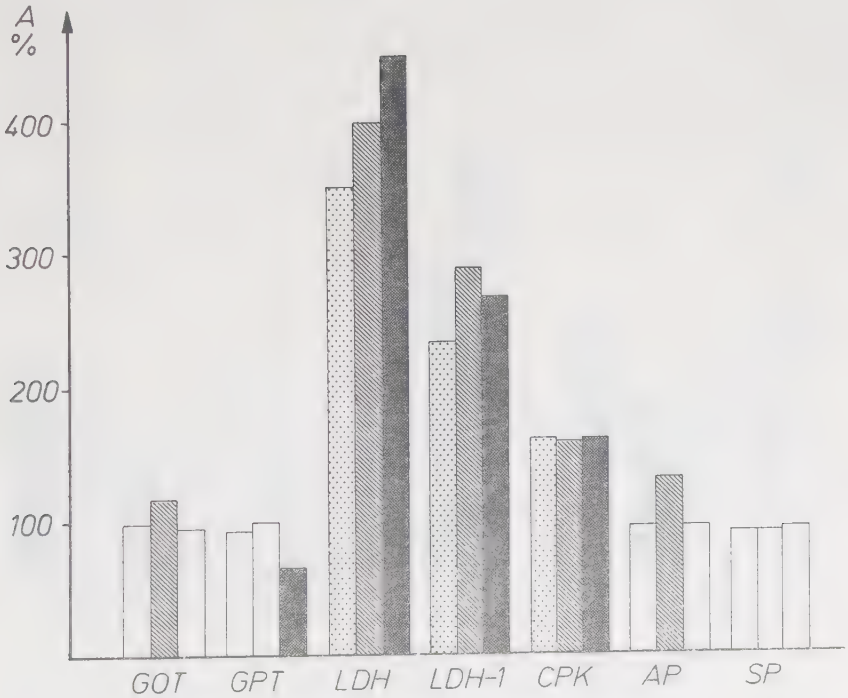


Abb. 11: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 24 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrovet^(R)

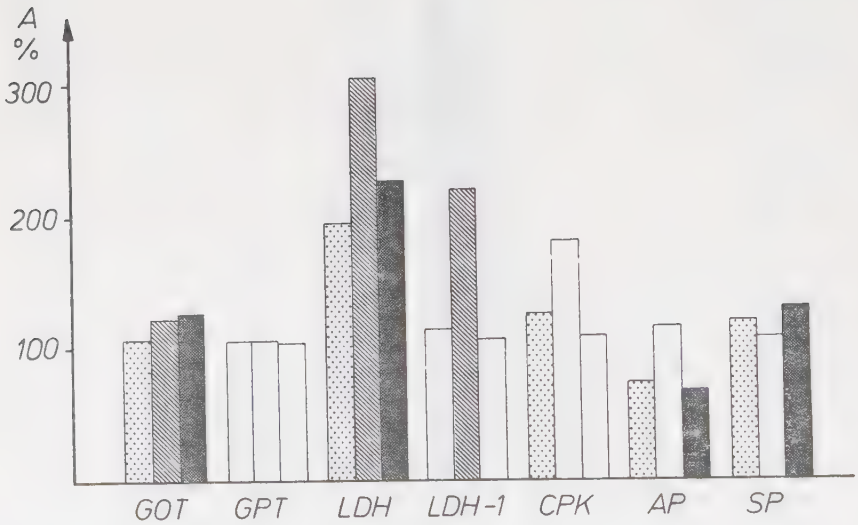


Abb. 12: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferrovet^(R)

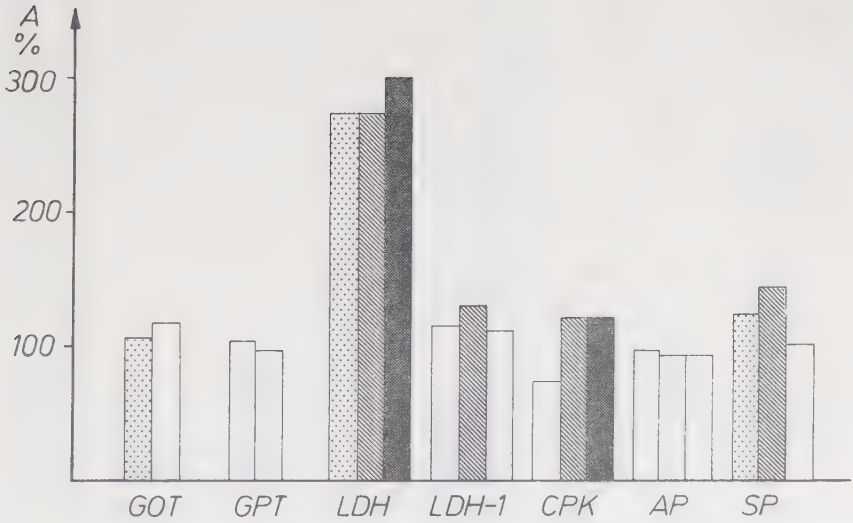


Abb. 13: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 6 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Myofer^(R)

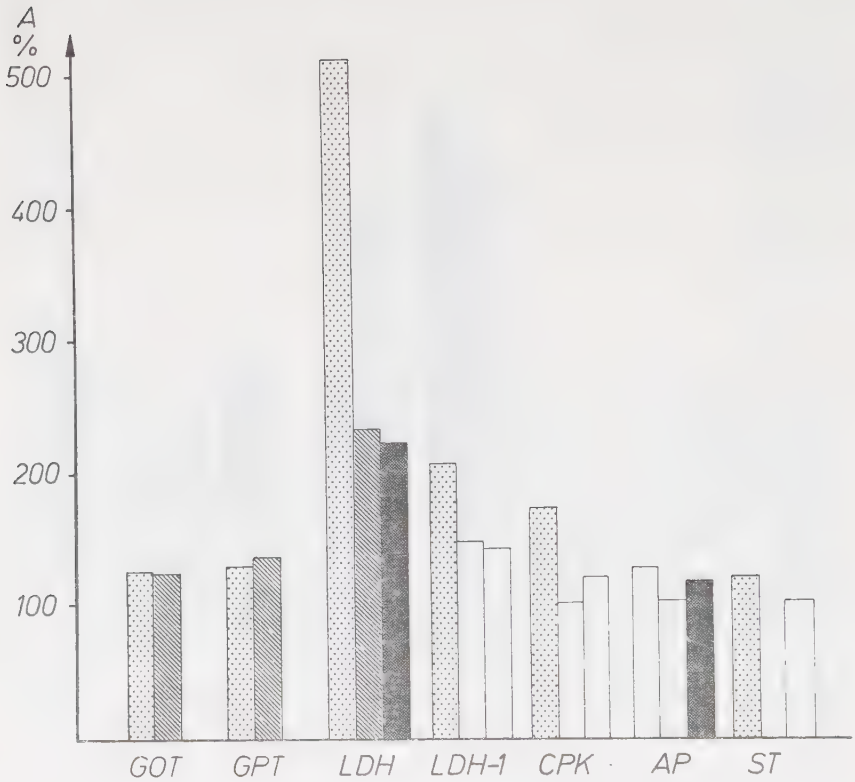


Abb. 14: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Myofer^(R)

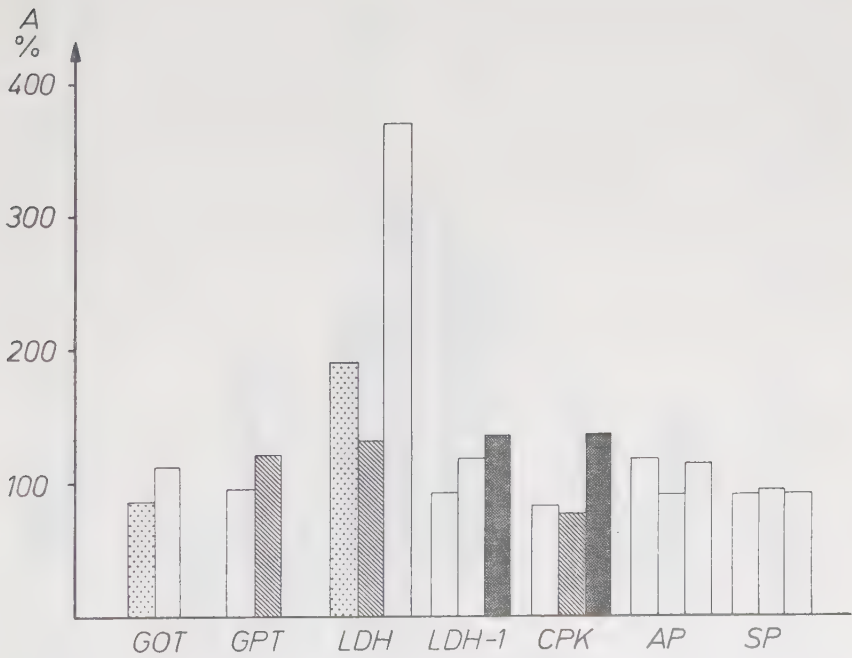


Abb. 15: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 24 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Myofer^(R)

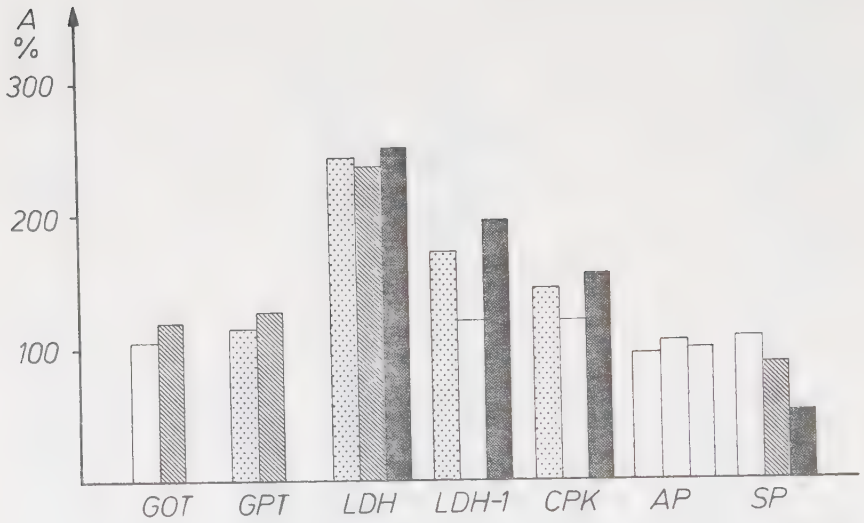


Abb. 16: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Myofer^(R)

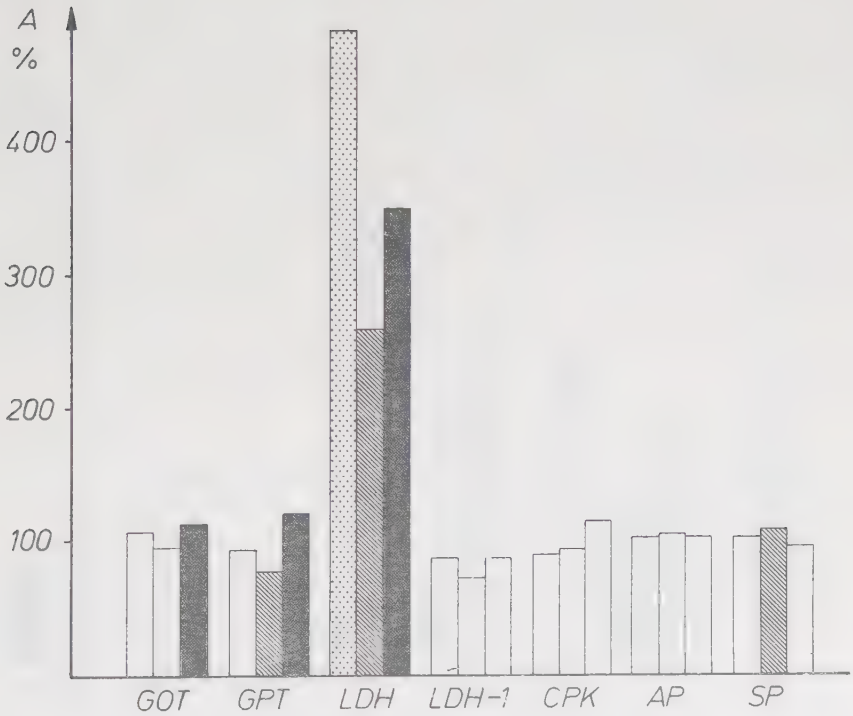


Abb. 17: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 6 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferkomin^(R)

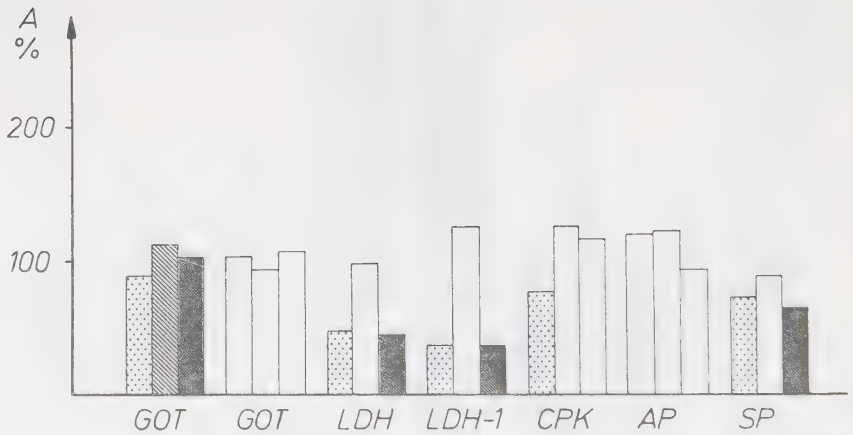


Abb. 18: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferkomin^(R)

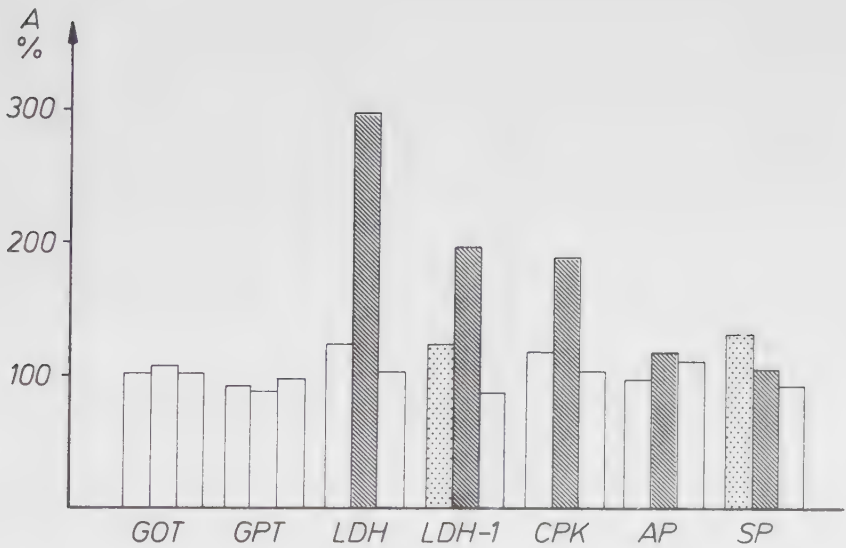


Abb. 19: Serumenzymaktivitäten konventionell ernährter Ratten 24 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferkomin^(R)

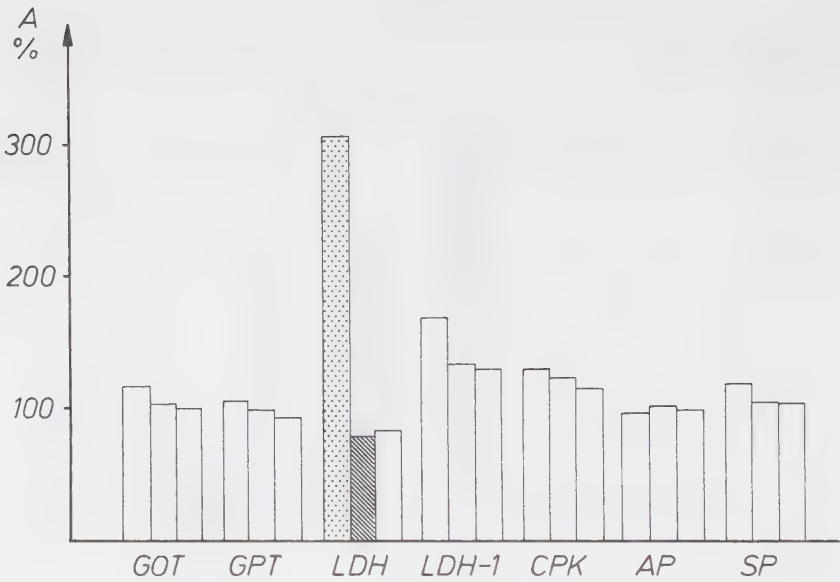


Abb. 20: Serumenzymaktivitäten vitamin E-arm ernährter Ratten 12 Stunden nach Verabreichung von 133 mg/kg Eisen des Präparates Ferkomin^(R)

2.3. Klinische Wirkungen der Eisenpräparate

Bei Präparat V (extrem toxisch) traten sowohl nach Injektion der veterinärmedizinischen Dosis (133 mg Fe^{+++} /kg Körpergewicht) an konventionell gehaltene Tiere, als auch nach Applikation der stark reduzierten Dosis (25 mg Fe^{+++} /kg Körpergewicht) bei vitamin E-armen Tieren folgende Vergiftungssymptome auf: Rasch eintretende Sedierung, Bewegungsstörungen bzw. Bewegungsunfähigkeit und gesträubtes Haarkleid. Das Vergiftungsbild war weitgehend mit dem von GUTSCHOW und SCHMID (45) bei Mäusen beobachteten Vergiftungstyp II identisch. Die Symptome verstärkten sich im Verlauf der Vergiftung, weshalb die überlebenden Tiere 12 Stunden post injectionem in moribundem Zustand getötet wurden.

Aus der konventionell gehaltenen Versuchstiergruppe waren nach 12 Stunden 2 von 24 Ratten verendet, von den vitamin E-arm ernährten Tieren 15 von 35.

IV. DISKUSSION

1. Versuche mit klinischen Intoxikationserscheinungen

Die mit Vergiftungssymptomen und Todesfällen verlaufenen und in Tabelle 4 und 5 sowie Abbildung 1 und 2 dargestellten Versuche ergaben zum Teil extreme Steigerungen der Enzymaktivitäten im Serum. Die erhöhten GOT- und CPK-Aktivitäten sind Ausdruck einer Schädigung quergestreifter Muskelfasern, was mit den histologisch-pathologischen Befunden zahlreicher Untersuchter (9, 12, 59, 84, 87, 114, 123, 132) nach der Verabreichung von Eisenpräparaten in Einklang steht. Aktivitätszunahmen der GPT und AP deuten auf eine zusätzliche Schädigung von Leberzellen im frühen Stadium der Vergiftung hin, obwohl morphologisch erkennbare Leberschäden nach akuter Eisenvergiftung von Ferkeln bisher nicht festgestellt wurden. Aufgrund der vorliegenden enzymdiagnostischen Befunde darf eine Beteiligung dieses Organs im frühen Stadium der Intoxikation jedoch als höchst wahrscheinlich angenommen werden, besonders wenn man die von KÖHLER (59) beobachtete Übereinstimmung der Organschädigung von Schweinen und Ratten bei akuter Eisenvergiftung berücksichtigt. Das frühe Ansprechen der als wenig empfindlich geltenden Leber kann als Ausdruck ungewöhnlicher Giftigkeit von Eisenpräparaten gewertet werden. Dies wird unterstrichen durch die gleichfalls erhöhte Serumaktivität der sauren Phosphatase, denn das verstärkte Auftreten der SP muß als Hinweis auf tiefgreifende Zellschädigungen angesehen werden.

Der deutliche Anstieg der LDH-Aktivität überrascht nach einer Schädigung dieser Organsysteme nicht. Aufgrund der relativ hohen Konzentrationen dieses Enzyms in Leber, quergestreifter Muskulatur, Erythrozyten und anderen Organen läßt sich das Verhalten der Gesamt-LDH in den Rahmen der beobachteten Enzymveränderungen einreihen. Der erhebliche Anteil des LDH-Isoenzym 1 an der LDH-Gesamtaktivität ist als weiterer Hinweis auf Membranschäden an quergestreiften Muskelfasern - insbesondere des Herzmuskels - zu werten.

Obwohl bei den vitamin E-arm ernährten Ratten aufgrund der zu erwartenden Toxizitätszunahme (59) die Eisenmenge auf weniger als ein Fünftel der "veterinärmedizinischen Dosierung" (von 133 mg Fe(III)/kg Körpergewicht) reduziert wurde, war bei diesen Tieren eine Erhöhung der Absterberate von ca. 8 % auf nahezu 43 % festzustellen. Überraschenderweise lagen die ge-

messenen Enzymaktivitäten zum Teil erheblich unter denen des vorausgegangenen Versuchs mit normal ernährten Tieren. Dies läßt sich wie folgt erklären:

Vitamin E-Mangel führt infolge Abschwächung des antioxidativen Membranschutzes und Wegfall einer Radikalauslöschung zu einem starken Anstieg der Peroxidkonzentration im Organismus. Peroxide und Peroxidradikale vermögen SH-Gruppen thiolhaltiger Enzyme zu inaktivieren. Und um solche Enzyme handelt es sich - mit Ausnahme der AP - im vorliegenden Fall (56, 89, 110).

Für diese Erklärung spricht, daß im Verlauf der vorliegenden Untersuchungen, zwar ohne erkennbare Gesetzmäßigkeit, immer wieder subnormale Serumenzymaktivitäten auftraten.

Von einer Enzyminaktivierung durch Radikale und Peroxide ausgehend muß angenommen werden, daß die in den vorliegenden Versuchen bestimmten Serumenzymaktivitäten nicht den tatsächlich freigesetzten Enzymmengen entsprechen, sondern zu niedrige Werte - insbesondere bei vitamin E-verarmten Tieren - vortäuschen.

Dieser Möglichkeit muß bei Verwendung enzymdiagnostischer Arbeitsmethoden in der experimentellen Toxikologie besonderes Augenmerk geschenkt werden. Entsprechende Hinweise finden sich auch bei SCHMIDT (99) und GÜRTLER (43).

Eine Inaktivierung SH-haltiger Enzyme durch peroxidische Radikale ist bei Untersuchungen über den Reaktionsmechanismus der akuten Eisenintoxikation bisher nicht beachtet worden. Ihre Bedeutung für die toxische Wirkung des Eisens und anderer Radikalinduktoren, z.B. Kupfer, sollte grundsätzlich - vor allem aber bei vitamin E-armen Tieren - bedacht werden.

2. Versuche ohne klinische Intoxikationserscheinungen

Bei den in Abbildung 3 bis Abbildung 20 dargestellten Versuchen traten keine klinisch sichtbaren Vergiftungserscheinungen nach der Eisenapplikation auf. Die Serumenzymaktivitäten sprechen jedoch auch hier für das Vorliegen einer mehr oder weniger ausgeprägten Membranschädigung.

Bei dem Präparat der Toxizitätsklasse 4 (Ferrodextran^(R)) weisen die Serumenzymwerte 6 Stunden nach der Eisenbehandlung auf Zellschädigungen in der

quergestreiften Muskulatur (CPK, GOT, LDH-1) hin. Demgegenüber scheint eine Leberschädigung, auf welche eine Erhöhung der GPT und AP hindeutet, erst nach 24 Stunden vorzuliegen. Die Organlokalisation und der Schweregrad der Noxe kommt bei diesem Präparat besonders deutlich im Versuch mit Vitamin E-Mangeltieren zum Vorschein. Die starke Erhöhung der CPK, GOT und LDH spricht für eine schwere Schädigung der Skelettmuskulatur; hinzu kommt eine Erhöhung der GPT-Aktivität, d.h. eine beginnende Leberaffektion. Die verminderte Eisentoleranz dieser Versuchstiere spiegelt sich auch im Verhalten der Gesamt-LDH-Aktivität wider.

Auch bei den Präparaten der Toxizitätsklasse 3 (Ferrovet^(R) und Myofer^(R)) lassen die Serumenzym Spiegel auf eine Schädigung der oben genannten Organe schließen. Überraschenderweise tritt bei diesen Eisenpräparaten ein signifikanter Serumaktivitätsanstieg der SP zutage. Das Auftreten dieses Enzyms muß als lysosomale Schädigung mit schwerwiegenden Konsequenzen (Eigenverdauung der Zelle durch aggressive lysosomale Hydrolasen) beurteilt werden. Diesem Sachverhalt sollte besonders bei der Beurteilung eventueller Spätfolgen Beachtung geschenkt werden.

Bei dem aufgrund seiner LD_{50/24h} als "kaum toxisch" zu beurteilenden Präparat I (Ferkomin^(R)) weist das Aktivitätsverhalten der untersuchten Enzyme (Abbildung 17 bis 20) auf eine deutlich verringerte Affektion von Zellmembranen hin. Hervorzuheben wäre eigentlich nur eine geringfügige aber statistisch signifikante Erhöhung der sauren Phosphatase und eine ausgeprägte Aktivitätszunahme der Lactat-Dehydrogenasen bei Tieren im Tocopheroldefizit.

Insgesamt nehmen die Lactat-Dehydrogenasen in diesen Untersuchungen eine gewisse Sonderstellung ein. Signifikante Aktivitätserhöhungen in fast allen Experimenten waren Anlaß, die Empfindlichkeit von Erythrozyten gegenüber Eisenpräparaten in vivo zu prüfen. Dabei konnte eine von anderen Untersuchern (34, 78, 104) beschriebene Hämolyse nicht bestätigt werden. Nach SCHMIDT (99) spricht dies gegen eine Beteiligung roter Blutkörperchen an der LDH-Freisetzung. Grundsätzlich kann der regelmäßige Aktivitätsanstieg der LDH unter folgenden Aspekten gesehen werden:

- a) Eine Erhöhung der LDH-Gesamtaktivität besitzt weitgehend unspezifischen Charakter und
- b) die LDH-Gesamtaktivität ist ein besonders empfindlicher Indikator für eine Schädigung durch parenteral verabreichtes Eisen.

Es scheint demnach, daß die LDH-Gesamtaktivität - trotz fehlender Organspe-

zifität - ein geeigneter Parameter für die Erkennung von Noxen im subtoxischen Bereich ist.

Die bei allen Präparaten gelegentlich zu verzeichnenden subnormalen Serum-enzymaktivitäten treten bei Ferkomin^(R) nach 12 Stunden Resorptionsdauer ziemlich deutlich zutage. Bei diesem Präparat scheint weniger der oben erwähnte enzyminaktivierende Effekt peroxidischer Radikale, sondern eher die Bildung stabiler Sulfide zwischen freien Eisenionen und SH-Gruppen des Enzyms für eine Hemmwirkung in Frage zu kommen. Weiterhin wäre eine Aktivitätshemmung denkbar durch Bindung der Enzyme an den Eisendextrancomplex.

Von besonderem Interesse, vor allem für die Belange der tierärztlichen Praxis ist schließlich die Frage, inwieweit die Verträglichkeit parenteral applizierbarer Eisenpräparate von der Applikationsart mitbestimmt wird. Eine Betrachtung der Abbildungen 1 bis 20 zeigt, daß von der subkutanen Verabreichung eine deutlich geringere Belastung als bei den anderen Applikationsarten der behandelten Tiere zu erwarten ist. Diese Feststellung gilt in besonderer Weise für Tiere in einer Vitamin E-Mangelsituation.

Insgesamt lassen die Ergebnisse den Schluß zu, daß bei der medikamentösen Eisenvergiftung hauptsächlich Schädigungen der quergestreiften Muskulatur und der Leber auftreten. Der zeitliche Verlauf der Enzymaktivitätsveränderungen spricht für Skelettmuskelnoxe zu Beginn der Intoxikation, während leberspezifische Aktivitätserhöhungen erst nach 24 Stunden ihr Maximum erreichen.

Als Ursache dafür werden in Übereinstimmung mit anderen Autoren (59, 84, 85, 86, 87, 114) vor allem die radikalinduzierenden Eigenschaften von Fe(II)-Ionen mit anschließender oxidativer Schädigung zellulärer und subzellulärer Membranen angesehen, wobei die Oxidationsempfindlichkeit in der Reihenfolge Mitochondrien > Mikrośomen > Lysosomen abnimmt (108).

Bemerkenswert in diesem Zusammenhang ist die besondere Eisenempfindlichkeit vitamin E-armer Tiere (14, 59, 65, 66, 85, 86, 88, 108, 114). Sie wird erklärt mit dem Wegfall der radikalquenchenden Wirkung von Tocopherol und der Labilisierung des Redoxgleichgewichts bei Vitamin E-Mangel.

Deshalb erhebt sich die Frage, ob sich Schäden bei der medikamentösen Eisenverabreichung durch Vitamin E verhüten bzw. beeinflussen lassen.

Aus Untersuchungen von TOLLERZ (112) geht hervor, daß Vitamin E keine therapeutische Wirksamkeit besitzt. Dies stellt auch keinen Widerspruch zur

wahrscheinlichen Pathogenese der Eisenschädigung dar. Der gleiche Autor (112) hat jedoch festgestellt, daß eine optimale Vitamin E-Versorgung der Muttertiere oder der prophylaktische Einsatz des Vitamins einige Tage vor der Eisenverabreichung die Gefährdung von Jungtieren deutlich herabzusetzen vermag. Dies gilt im beschränkten Umfang auch für geeignete Selenverbindungen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Als Beitrag zur Pathogenese der medikamentösen Eisenvergiftung wurden die Serumaktivitäten zellulärer Enzyme (GOT, GPT, LDH, LDH-1, CPK, AP und SP) von 753 männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten 6, 12 und 24 Stunden nach der subkutanen, intramuskulären und intraperitonealen Verabreichung von Eisenpräparaten untersucht.
2. Bei den Präparaten handelt es sich um Ferkomin^(R), Myofer^(R), Ferrovet^(R), Ferrodextran^(R) und Jectofer^(R). Sie besitzen nach GUTSCHOW und SCHMID (45) eine bis zum Faktor 1000 verschiedene akute Toxizität.
3. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:
 - a) Die unbeeinflussten Serumaktivitäten der GOT, GPT, LDH, AP und SP konventionell gehaltener Tiere zeigen geschlechtsspezifische Unterschiede; dies ist bei Vitamin E-Mangeltieren auch für die GOT, AP und SP nachweisbar.
 - b) Die Präparate verursachen eine von der Toxizität abhängige Beeinflussung der Enzymaktivitäten.
 - c) Die Aktivitätsänderungen bestehen in einem Anstieg der CPK-, GOT-, LDH- und LDH-1- bzw. GPT-, AP- und SP-Aktivität und legen damit in erster Linie eine Schädigung der quergestreiften Muskulatur und der Leber nahe.
 - d) Die Schädigung beruht offenbar auf einer Beeinflussung zellulärer und subzellulärer Membranen. Als Ursache wird eine Induktion oxidativer Radikale durch freies Eisen diskutiert.
 - e) Vitamin E-Mangelfütterung führt infolge verstärkter Radikalbildung zu einer Erhöhung der Eisenunverträglichkeit.
 - f) Die gelegentlich festgestellte Enzymhemmung wird auf direkte Wirkungen der Eisenionen und/oder des Eisenpolysaccharidkomplexes sowie indirekt auf eine Schädigung durch eiseninduzierte peroxidische Radikale zurückgeführt.
 - g) Beim Vergleich der Applikationsarten werden nach subkutaner Eisenverabreichung die geringsten Enzymaktivitätsänderungen festgestellt, so daß von dieser Injektionsart die kleinste potentielle Gefährdung auszugehen scheint.
4. Medikamentöse Eisenvergiftungen können durch prophylaktische Maßnahmen vermieden werden. Am wichtigsten ist dabei eine ausreichende Vitamin E-Versorgung der Mutter- bzw. Jungtiere.

SUMMARY

1. As contribution to elucidation of the pathogenesis of medicamentous iron poisoning, the serum activities of cellular enzymes (GOT, GPT, LDH, LDH 1, CPK, alkaline and acid phosphatases) were investigated in 753 male and female Sprague-Dawley rats 6, 12 and 24 hours after subcutaneous, intramuscular and intraperitoneal administration of iron preparations.
2. The preparations used were Ferkomin^(R), Myofer^(R), Ferrovet^(R), Ferrodextran^(R) and Jectofer^(R). According to GUTSCHOW and SCHMID (45) the acute toxicities of these preparations vary by a factor of up to 1000.
3. The results may be summarized as follows:
 - a) The serum activities of GOT, GPT, LDH, alkaline and acid phosphatases in conventionally maintained control animals exhibited sex-specific differences; this was also demonstrable for GOT, alkaline and acid phosphatases in the case of animals receiving a diet deficient in Vitamin E.
 - b) The influence of the preparations of the enzyme activities was dependent on the toxicity.
 - c) The changes in activities consisted of elevations of the CPK, GOT, LDH and LDH-1 values or of GPT, alkaline and acid phosphatase values which mainly suggest damage to the striped muscle or the liver respectively.
 - d) The damage is apparently due to an effect on cellular and subcellular membranes. An induction of oxidative radicals by free iron is discussed as possible cause of this effect.
 - e) Vitamin E deficiency led to reduced toleration of iron as a result of increased formation of oxidative radicals.
 - f) The enzyme inhibition occasionally detected was attributed to a direct effect of the iron ions and/or ironpolysaccharide complex and indirectly to damage via ironinduced peroxidative radicals.
 - g) Comparison of the modes of application revealed that the smallest changes in enzyme activities occurred after subcutaneous administration of the iron, and it hence appears that this type of injection presents the least potential hazard.

4. The danger of medicamentous iron poisonings can be reduced by prophylactic measures, the most important being to ensure an adequate intake of Vitamin E by dams and sucklings.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ARANDA, L.C. und A. ASENJO
Tremor induced by iron overloading
J. Neurosurg. 30, 35-37, 1969
- 2 ARPI, T. und G. TOLLERZ
Iron poisoning in piglets; Autopsy findings in experimental
and spontaneous cases
Acta vet. scand. 6, 360-373, 1965
- 3 BAKER, N. und L. WILSON
Inhibition of tumor glycolysis by hydrogen peroxide formed
from auto-oxidation of unsaturated fatty acids
Biochem. Biophys. Res. Comm. 11, 60-68, 1963
- 4 BECKER, W.
Die Zusammenhänge zwischen Eisenmangel und Aufzucht-
krankheiten beim Schwein
Die Blauen Hefte, 1, 88-95, 1959
- 5 BEHRENS, H.
Prophylaxe und Therapie der Saugferkelanämie mit dem Eisen-
dextranpräparat Myofer^(R)
Dt. tierärztl. Wschr. 65, 511-518, 1958
- 6 BEHRENS, H.
Der Eisenmangel der Saugferkel
Dt. tierärztl. Wschr. 67, 291-296, 1960
- 7 BEHRENS, H.
Die Bedeutung des Eisens für die Ferkelaufzucht und die
Möglichkeiten der Applikation
Mitteilg. für Tierhaltg. 77, 81-87, 1962
- 8 BEHRENS, H.
Untersuchungen über die parenterale Applikation von Eisen-
präparaten bei Saugferkeln
Dt. tierärztl. Wschr. 70, 444-446, 1963

- 9 BEHRENS, H.
Todesfälle bei Saugferkeln nach Injektion von Eisenpräparaten
Die Blauen Hefte 41, 17-23, 1969
- 10 BEHRENS, H. und E. LAUPRECHT
Untersuchungen über die Gewichtsentwicklung bei Saugferkeln
nach intramuskulärer, subkutaner und intraabdominaler Injektion
von Eisendextrin-Cyanamid und Myofer^(R)-100
Dt. tierärztl. Wschr. 70, 677-680, 1963
- 11 BEN-ISHAY, D.
Toxic reactions to intramuscular administration of iron dextran
Lancet, 4, 476-478, 1961
- 12 BLANDFORD, T.B. und G.A. LODGE
Acute hepatic necrosis following an iron dextran injection
Vet. Rec. 78, 117, 1966
- 13 BOLLWAHN, W. und B. SCHULTEN
Versuche zur prophylaktischen Behandlung der Saugferkelanämie
mit oral und parenteral applizierbaren Eisen-Präparaten
Dt. tierärztl. Wschr. 71, 543-545, 1964
- 14 BOLLWAHN, W. und S. UEBERSCHÄR
Zwischenfälle nach Eisenapplikation bei Saugferkeln
Dt. tierärztl. Wschr. 76, 481-484 u. 541-547, 1969
- 15 BOLLWAHN, W., T. VASKE, M. ROJAS und J. WENZ
Die Hämatopoese neugeborener Ferkel und ihre Beeinflussung
durch Eisendextran (Myofer^(R))
Die Blauen Hefte, 45, 171-182, 1971
- 16 BRAUDE, R., A.G. CHAMBERLAIN, M. KOTARBINSKA und G. MITCHELL
The metabolism of iron in piglets given labelled iron either orally
or by injection
Brit. J. Nutr. 16, 427-449, 1962

- 17 BROWN, E.B.
Drugs effective in iron-deficiency anemias
in: Drill's pharmacology in medicine, 4. Aufl., 1045-1060
Ed.: DiPALMA, J.
New York, McGraw-Hill Book Company, 1971

- 18 BROWN, R.J.K. und J.D. GRAY
The mechanism of acute ferrous sulphate poisoning
Canad. M. A. J. 7, 192-197, 1955

- 19 BUDDECKE, E.
Grundriß der Biochemie, 2. Aufl.
Berlin, Verlag Walter de Gruyter u. Co., 1971

- 20 CAVALLI-SFORZA, L.
Biometrie
Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik, 2. Aufl.
Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1969

- 21 CHANEY, C.H. und C.E. BARNHART
The effect of iron supplementation on the prevention of anemia
in baby pigs
Amer. J. Vet. Res. 25, 420-423, 1964

- 22 COMBS, G.E.
Die Behandlung der Eisenmangelanämie bei jungen Schweinen
Veterinärmed. Nachr., 78-83, 1972

- 23 COVEY, T.J.
Ferrous sulphate poisoning:
Review, case summaries and therapeutic regimen
J. Pediat. 64, 218-226, 1964

- 24 DE DUVE, Ch.
The lysosome concept
in: Lysosomes, 1-35
Eds.: REUCK A.V.S. and M.P. CAMERON
Boston, Little, Brown and Company, 1963

- 25 DESAI, J.D. und A.L. TAPPEL
Damage to proteins by peroxidized lipid
J. Lipid Res. 4, 204, 1963
- 26 DHALLA, M.S., M. FEDELESOVA und J. TEFFLER
Biochemical alterations in the skeletal muscle of vitamin E
deficient rats
Can. J. Biochem. 49, 1202-1208, 1971
- 27 DITTMAR, C.
Untersuchung von Tumoren
in: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, Handbuch der physiologisch-
und pathologisch-chemischen Analyse, Bd. V, 10.Aufl., 683-737
Hrsg.: LANG K. und E. LEHNARTZ
Berlin, Springer Verlag, 1953
- 28 Documenta Geigy
Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage
Basel, J.R. Geigy A.G., 1962
- 29 DONALDSON, J., St. PIERRE, J. MINNICH und A. BARBEAU
Seizures in rats associated with divalent cation inhibition
of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$
Can. J. Biochem. 49, 1217-1224, 1971
- 30 DRESSLER, D.
Mineralische Elemente in der Tierernährung, 1. Aufl.
Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer, 1971
- 31 DVORAK, M.
Die Wirkung von Myofer^(R) auf den Serumeisenspiegel im
Vergleich mit der Verabreichung von Eisen per os
Dt. tierärztl. Wschr. 67, 180-185, 1960
- 32 EICKHOLT, T.H.
Pharmacology of iron
Can. J. Pharm. Sci. 4, 1-7, 1969

- 33 FEDELESOVA, M., P.V. SULAKHE, J.C. YATES und N.S. DHALLA
 Biochemical basis of heart function
 IV. Energy metabolism and calcium transport in hearts of
 vitamin E deficient rats
 Can. J. Physiol. Pharmacol. 49, 909-918, 1971

- 34 FIELDING, J.
 The haemolytic activity of an iron carbohydrate complex
 J. Clin. Path. 16, 12-17, 1963

- 35 FORSTER, G., E. BERNT und H.U. BERGMEIER
 Creatin-Kinase
 in: Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. I, 2. Aufl., 750-771
 Hrsg. BERGMEIER H.U.
 Weinheim/Bergstraße, Verlag Chemie, 1970

- 36 FÜHNER, H.
 Medizinische Toxikologie, 3. Aufl.
 Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1951

- 37 FUJITA, T.
 Formation of lipid peroxide in rat liver mitochondria
 Yakugaku Zasshi 92, 250-256, 1972
 Biol. Abstr. 55, Nr. 1261, 1973

- 38 GERBER, H., J. MARTIG und R. STRAUB
 Enzymuntersuchungen im Serum von Großtieren im Hinblick
 auf Diagnose und Prognose
 tierärztl. prax. 1, 5-18, 1973

- 39 GLEASON, M.N., R.E. GOSSELIN, H.C. HODGE und R.P. SMITH
 Clinical toxicology of commercial products, 3. Aufl.
 Baltimore, The Williams and Wilkins Co, 1969

- 40 GOLBERG, L., L.E. MARTIN und A. BATCHELOR
 Biochemical changes in the tissues of animals injected with iron
 Biochem. J. 83, 291-298, 1962

- 41 GOLBERG, L. und J.P. SMITH
Vitamin A and E deficiencies in relation to iron overloading
in the rat
J. Path. Bact. 80, 173-180, 1960
- 42 GROSSE-BROCKHOFF, F.
Pathologische Physiologie, 2. Aufl.
Berlin-Heidelberg-New York, Springer Verlag, 1969
- 43 GÜRTLER, H.
Die diagnostische Bedeutung einiger Serumfermente
Zbl. Vet. Med. 7, 160-163, 1960
- 44 GUTSCHOW, K.
Persönliche Mitteilung
- 45 GUTSCHOW, K. und A. SCHMID
Ursachen der medikamentösen Eisenvergiftung in der Veterinär-
medizin; Toxizität handelsüblicher Eisenpräparate und -verbin-
dungen
Arch. Pharmacol., 270, (Suppl.), Ref. 50, 1971
- 46 GUTSCHOW, K. und A. SCHMID
Abhängigkeit der Toxizität handelsüblicher Eisenpräparate
vom Eisen-II-Gehalt
Arch. Pharmacol., 274 (Suppl.), Ref. 45, 1972
- 47 HEBESTREIT, H.P., J. HILGENFELDT und J. LÜTGEMEIER
Eine neue nuklearmedizinische Methode zur Beurteilung der
freien Eisenbindungskapazität im Serum
Therapiewoche, 50, 4450-4451, 1972
- 48 HEBOLD, G., H. CZERWEK und H. BLEUEL
Standardwerte im Serum bei der Ratte (Sprague-Dawley)
Z. Versuchstierk. 14, 17-21, 1972
- 49 HEROLD, E. und F. KEMPER
Enzymatische "Leberfunktionsproben" bei Ratten
Z. Versuchstierk. 10, 285-291, 1968

- 50 HOPPE, J.O., G.M.A. MARCELLI und M.L. TAINTER
A review of the toxicity of iron compounds
Am. J. Med. Sci. 230, 558-571, 1955
- 51 HORGAN, V.J., L. PHILPOT, B.W. PORTER und D.B.ROODYN
Toxicity of autoxidized squalene and linoleic acid and of simpler
peroxides, in relation to toxicity of radiation
Biochem. J. 67, 551-558, 1957
- 52 HORWITT, M.K.
Role of vitamin E, selenium and polyunsaturated fatty acids
in clinical and experimental muscle disease
Fed. Proc. 24, 67-72, 1965
- 53 JACOB, H.S.J. und S.E. LUX
Degradation of membran phospholipids and thiols in peroxide
hemolysis: Studies in vitamin E deficiency
Blood, 32, 549-568, 1968
- 54 JACOBS, J., H. GREEN und B.R. GENDEL
Acute iron intoxication
New Engl. J. Med. 273, 1124-1127, 1965
- 55 JACOBSEN, S.D. und E. HANSSON
Distribution of selenium in mice studied by whole-body
autoradiography after injection of Se^{75} -sodium selenite
Acta vet. scand. 6, 287-298, 1965
- 56 JOCELYN, P.C.
Biochemistry of the SH Group, 1. Aufl.
London - New York, Academic Press, 1972
- 57 KARLSON, P.
Kurzes Lehrbuch der Biochemie, 8. Aufl.
Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1972
- 58 KENNER, Th. und W. WALDHÄUSL
Die Beeinflussung von Enzymaktivitäten im Rattenserum durch nor-
movolämischen und hämorrhagischen Schock und durch Verbrühung
Wiener klin. Wschr. 76, 253-255, 1964

- 59 KÖHLER, H.
Untersuchungen zur Klärung von Todesfällen bei Schweinen
nach Injektion von Eisenkomplexverbindungen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 79, 337-349, 1966
- 60 KOLB, E.
Ernährungsphysiologische Betrachtungen zum Problem der
Entstehung und der Prophylaxe der Ferkelanämie
Prakt. Tierarzt 42, 215-217, 1961
- 61 KOLB, E.
Pathophysiologie der Ernährung
in: Lehrbuch der Pathologischen Physiologie der Haustiere,
171-266,
Hrsg.: POTEL, K.
Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1969
- 62 KOLB, E. und H. GÜRTLER
Entstehung und Bekämpfung der Ferkelanämie
Tierzucht, 15, 492-494, 1961
- 63 KRÖNER, H. und W. STAIB
Leberenzyme bei der akuten Tetrachlorkohlenstoffvergiftung
Z. klin. Chem. Biochem. 6, 318-321, 1968
- 64 LAMBDEN, M.P., R. KORSON und P. RIEGO
Vitamin C effect of an oxidized diet
Proc. Soc. Biol. Med. 137, 1249-1252, 1971
- 65 LANNEK, N., P. LINDBERG und G. TOLLERZ
Lowered resistance to iron in vitamin-E deficient piglets
and mice
Nature, Lond. 195, 1006-1007, 1962
- 66 LANNEK, N. und G. TOLLERZ
Überempfindlichkeit gegen die Eisenbehandlung bei Vitamin-E-
Mangel-Ferkeln
Medlemsbl. f. Sveriges Veterinärförb. 14, 29-36, 1962

- 67 LAUFROM, H. und S.O. NEILSON (1957)
zit. nach JOCELYN, P.C.
Biochemistry of the SH Group, 1. Aufl.
London - New York, Academic Press, 1972
- 68 LEWIS, S.E. und E.D. WILLS
The distruction of -SH groups of proteins and amino acids by
peroxides of unsaturated fatty acids
Biochem. Pharmacol. 11, 901-906, 1962
- 69 LINDBERG, P. und E. TANHUANPÄÄ
Retention of selenium in tissues of swine after a simple
intramuscular administration of sodium selenite
Acta vet. scand. 6, 268-273, 1965
- 70 LINDVALL, S. und N.S.E. ANDERSSON
Studies on a new intramuscular haematinic, iron-sorbitol
Brit. J. Pharmacol. 17, 358-371, 1961
- 71 LINKENHEIMER, W.H.
Eisen - sein Stoffwechsel und seine Anwendung bei der
Ferkelanämie
Mitteilg. für Tierhaltg., Sonderdruck aus Heft Nr. 79, 1962
- 72 LITTLE, C. und P.J. O'BRIEN
Mechanism of peroxide-inactivation of the sulfhydryl enzyme
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
Biochem. 10, 533-538, 1969
- 73 LONDON, E. und G.D. TWIGG (1952)
zit. nach 7
- 74 MATRONE, G., E.L. THOMASON und G.R. BUNN
Requirement and utilization of iron by the baby pig
J. Nutr. 60, 459-465, 1960
- 75 MAZUR, A., E. SHORR und J. LITT
A quantitative immunochemical study of ferritin and its
relation to the hepatic vasodepressor material
J. Biol. Chem. 182, 607-627, 1950

- 76 McCANCE, R.A. und E.M. WIDDOWSON
The metabolism of iron during suckling
J. Physiol. 112, 450-458, 1951
- 77 McDONALD, F.F., D.DUNLOP und M. BATES
An effective treatment for anemia of piglets
Brit. Vet. J. 111, 403-407, 1955
- 78 MELHORN, D.K. und S. GROSS
Relationship between iron-dextran and vitamin E in iron
deficiency anemia in children
J. Lab. Clin. Med. 74, 789-802, 1969
- 79 MEYER, F.
Zur intravenösen Eisentherapie
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 1, 76-79, 1951
- 80 MOESCHLIN, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen, 6. Aufl.
Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1972
- 81 NEUNDORF, R. und H. SEIDEL
Schweinekrankheiten
Jena, VEB Gustav Fischer Verlag, 1972
- 82 NIEPOLD, D.
Eine genügende Eisenzufuhr als notwendige Voraussetzung
einer rentablen Aufzucht gesunder Ferkel
Tierärztl. Umschau, 23, 138-140, 1968
- 83 NILSSON, P.O.
Einige Fälle akuter Eisenvergiftung mit Myokardschaden
bei Jungferkeln
Nord. vet. med. 12, 113-119, 1960
- 84 PATTERSON, D.S.P., W.M. ALLEN, D.C. THURLEY und
J.T. DONE
The role of tissue peroxidation in iron-induced myodegeneration
of piglets
Biochem. J. 104, 2 P, 1967

- 85 PATTERSON, D.S.P., W.M. ALLEN, D.C. THURLEY
und J.T. DONE
The toxicity of iron-dextran in piglets
Vet. Rec. 80, 333-334, 1967
- 86 PATTERSON, D.S.P., W.M. ALLEN, S. BERRETT,
D. SWEASEY, D.C. THURLEY und J.T. DONE
A biochemical study of the pathogenesis of iron-induced
myodegeneration of piglets
Zbl. Vet. Med. 16, Serie A 199-214, 1969
- 87 PATTERSON, D.S.P., W.M. ALLEN, S. BERRETT,
D. SWEASEY und J.T. DONE
The toxicity of parenteral iron preparations in the rabbit
and pig with a comparison of the clinical and biochemical
responses to iron-dextrose in 2 days old and 8 days old piglets
Zbl. Vet. Med. 18, Serie A 453-464, 1971
- 88 PEDERSEN, J.G.A.
Über die verminderte Toleranz für Eisen bei Ferkeln
Nord. vet. med. 18, 1-18, 1966
- 89 PFLEIDERER, G.
Lactat-Dehydrogenase
in: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, Handbuch der physiologisch-
und pathologisch-chemischen Analyse, Bd. VI/A, 10 Aufl.,
356-363
Hrsg.: LANG, K. und E. LEHNARTZ
Berlin, Springer Verlag, 1964
- 90 RAUEN, H.M. und H. SCHRIEWER
Enzymaktivitätskorrelation im Serum nach experimentellen
Leberschädigungen der Ratte
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 21, 1201-1205, 1971
- 91 REISSMANN, K.R., Th. J. COLEMAN, B.S. BUDAI und L.R. MORIARTY
Acute intestinal iron intoxication
I. Iron absorption, serum iron and autopsy findings
Blood, 10, 35-45, 1955

- 92 REISSMANN, K.R. und T.J. COLEMAN
Acute intestinal iron intoxication
Blood, 10, 46-51, 1955
- 93 ROMVARY, A.
Prophylaxe der Saugferkelanämie mit oral und parenteral
appliziertem Eisendextran
Mh. Vet. Med. 22, 844-887, 1971
- 94 ROSS, J.P.
Toxic reactions after intravenous iron
Lancet, 13, 77-79, 1957
- 95 RYDBERG, M.E., H.L. SELF, T. KOWALCZYK und
R.H. GRUMMER
The effectiveness of three different methods of iron
administration to young piglets
J. Anim. Sci. 18, 410-414, 1959
- 96 SHO, H.K., T. EGASHIRA, M. SEKI, M. YANADA und
T. SHINDO
Studies on monoaminooxidase
II. Solubilization and purification of mitochondrial monoamino-
oxidase
Folia pharmacol. Jap. 66, 442, 1971
- 97 SCHMID, A. und K. GUTSCHOW
Ursachen der medikamentösen Eisenvergiftung in der Veterinär-
medizin; Beziehung zwischen Toxizität und dialysierbarem Eisen-
anteil von handelsüblichen Eisenpräparaten
Arch. Pharmacol., 270 (Suppl.), Ref. 124, 1971
- 98 SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Enzym-Fibel
Mannheim, Boehringer Mannheim GmbH, 1969
- 99 SCHMIDT, F.H.
Erfahrungen mit Enzymbestimmungen bei Toxizitätsuntersuchungen
Excerpta Medica International Congress Series, No. 90, 84-95, 1965

- 100 SCHMIDT, F.W. und E. SCHMIDT
Die Bedeutung der enzymatischen Analyse in der Medizin,
Grundlagen
in: Methoden der enzymatischen Analyse, Band I, 2. Aufl., 8-14
Hrsg.: BERGMEIER, H.U.
Weinheim/Bergstraße, Verlag Chemie, 1970
- 101 SCHMITZ, H. und A. MÜLLER
Vergleichende Untersuchungen über die therapeutische Wirkung
oral applizierter Eisen(II)- bzw. Eisen(III)-Antianämica
Arzneim. Forsch. (Drug Res.), 21, 509-515, 1971
- 102 SMITH, G.J. und W.L. DUNKLEY
Initiation of lipid peroxidation by a reduced metal ion
Arch. Biochem. Biophys. 98, 46-48, 1962
- 103 SMITH, J.P.
Pathology of ferrous sulphate poisoning
J. Path. Bact. 64, 467-469, 1952
- 104 SMITH, K.A. und Ch.E. MENGEL
Association of iron-dextran-induced hemolysis and lipid
peroxidation in mice
J. Lab. Clin. Med. 72, 505-510, 1968
- 105 SOMERS, G.F.
Relative oral toxicity of some therapeutic iron preparations
Brit. med. J. 2, 201-204, 1947
- 106 STRUBELT, O., H. BREINING und H. PRAEL
Der diagnostische Aussagewert von Serumenzymen bei toxiko-
logischen Untersuchungen an Ratten
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 23, 77-82, 1973
- 107 SULLIVAN, T., E.B. GUTMAN und A.B. GUTMAN (1942)
zit. nach SCHMIDT, E. u. F.W. SCHMIDT (98)

- 108 TAPPEL, A.L.
Free-radical lipid peroxidation damage and its inhibition
by vitamin E and selenium
Fed. Proc. 24, 73-78, 1965
- 109 TAPPEL, A.L., P.L. SAWANT und S. SHIBKO
Lysosomes: Distribution in animals, hydrolytic capacity
and other properties
in: Lysosomes, 78-113
Eds.: DE REUCK, A.V.S. and M. P. CAMERON
Boston, Little, Brown and Company, 1963
- 110 TEMPEL, K.
Persönliche Mitteilung
- 111 Test-Fibel
Boehringer Mannheim GmbH, 1971
- 112 TOLLERZ, G.
Studies on the tolerance to iron in piglets and mice
Diss. med. vet., Stockholm, 1965
- 113 TRAUTSCHOLD, J. und E. WERLE
Transaminasen
in: HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, Handbuch der physiologisch-
und pathologisch-chemischen Analyse, Bd. VI/B, 10. Aufl.,
306-523
Hrsg.: LANG, K. und E. LEHNARTZ
Berlin, Springer Verlag, 1964
- 114 UEBERSCHÄR, S.
Todesfälle bei Saugferkeln nach Applikation von Eisen-
Dextran-Präparaten
Dt. tierärztl. Wschr. 73, 145-150, 1966

- 115 ULLREY, D.E., E.R. MILLER, D.R. WEST, D.A. SCHMIDT,
R.W. SEERLEY, J.A. HOEFER und R.W. LUECKE
Oral and parenteral administration of iron in the prevention and
treatment of baby pig anemia
J. Anim. Sci. 18, 256-260, 1959
- 116 UNSHELM, J.
Untersuchungen über Möglichkeiten zur Prophylaxe der Ferkel-
anämie durch orale Eisengaben an Sauen
Dt. tierärztl. Wschr. 71, 607-612, 1964
- 117 VENN, J.A.J., R.A. McCANCE und E.M. WIDDOWSON
Iron metabolism in piglet anemia
J. comp. Path. 57, 314-325, 1947
- 118 VÖLKER, K.
Lehrbuch der Toxikologie für Tierärzte
Stuttgart, Enke Verlag, 1950
- 119 WALLERSTEIN, R.O.
Intravenous iron-dextran complex
Blood 32, 690-695, 1968
- 120 WEBER, E.
Grundriß der biologischen Statistik, 7. Aufl.
Stuttgart, Gustav Fischer Verlag, 1972
- 121 WEIGERT, P.
Persönliche Mitteilung
- 122 WEIGERT, P.
Der Einfluß von Auspuffgasen auf die Enzymaktivität im
Serum von Ratten und Hunden
Diss. med. vet., München, 1972

- 123 WEISS, E.
Pathophysiologie des Blutes und der blutbildenden Gewebe
in: Pathophysiologie der Haustiere, 1. Aufl., 1-83
Hrsg.: SPÖRRI, H. und H. STÜNZI
Berlin-Hamburg, Verlag Paul Parey, 1969
- 124 WHITTEN, C.F., Y.C. CHEN und G.W. GIBSON
Studies in acute iron poisoning
III. The hemodynamic alterations in acute experimental iron
poisoning
Pediat. Res. 2, 479-485, 1968
- 125 WILLS, E.D.
Effect of unsaturated fatty acids and their peroxides on enzymes
Biochem. Pharmacol. 7, 7-16, 1961
- 126 WILLS, E.D.
Mechanism of lipid peroxide formation in tissues. Role of
metals and haematin proteins in the catalysis of the oxidation
of unsaturated fatty acids
Biochem. biophys. Acta, 88, 238-251, 1965
- 127 WILLS, E.D.
Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissues
Biochem. J. 99, 667-676, 1966
- 128 WILLS, E.D.
Effect of iron overload on lipid peroxide formation and oxidation
demethylation by the liver endoplasmatic reticulum
Biochem. Pharmacol. 21, 230-247, 1972
- 129 WILLS, E.D. und A.E. WILKINSON
Release of enzymes from lysosomes by irradiation and the relation
of lipid peroxide formation to enzyme release
Biochem. J. 99, 657-666, 1966
- 130 WIRTH, W., G. HECHT und Ch. GLOXHUBER
Toxikologie Fibel, 1. Aufl.
Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 93, 1967

- 131 WITTING, L.A.
Biological availability of tocopherol and other antioxidants at
the cellular level
Fed. Proc. 24, 912-916, 1965
- 132 WITZLEBEN, C.L. und N.J. CHAFFEY
Acute ferrous sulfate poisoning
Arch. Path. 82. 454-461, 1966

Herrn Prof. Dr. J. KALICH, dem komm. Vorstand des Institutes für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München danke ich für die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen am Institut.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. SCHMID und Herrn Dr. K. GUTSCHOW für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. KRAFT bin ich für die Möglichkeit, die Enzymaktivitätsmessungen im Labor der Medizinischen Tierklinik durchzuführen, zu großem Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Alfred Hans Plendl	geb. am 21. Juli 1944 in Straubing
Eltern:	Franz Xaver Plendl, Schreinermeister Therese Plendl, geb. Gründl
Familienstand:	verheiratet
Schulbildung:	Volksschule St. Peter, Straubing Ludwig-Oberrealschule, Straubing Abitur 1965
Grundwehrdienst:	Oktober 1965 bis März 1967
Studium:	ab Sommersemester 1967 Studium der Veterinärmedizin an der Universität München
Staatsexamen:	1971/1972
Bestallung:	Mai 1972

